

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ISABELLA ELOY DE SOUZA BARBARESCO DAMIANI

**ESTUDO *IN VITRO* DO POTENCIAL EROSIVO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS NA
SUPERFÍCIE DO ESMALTE BOVINO**

CURITIBA

2017

ISABELLA ELOY DE SOUZA BARBARESCO DAMIANI

ESTUDO *IN VITRO* DO POTENCIAL EROSIVO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS NA
SUPERFÍCIE DO ESMALTE BOVINO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Adilson Soares de Lima

CURITIBA

2017

Damiani, Isabella Eloy de Souza Barbaresco

Estudo *in vitro* do potencial erosivo de bebidas alcoólicas na superfície do esmalte bovino / Isabella Eloy de Souza Barbaresco Damiani – Curitiba, 2017.
66 f. ; 30 cm

Orientador: Professor Dr. Antonio Adilson Soares de Lima
Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Inclui bibliografia

1. Esmalte dentário. 2. Erosão dentária. 3. Desmineralização do dente. 4. Solubilidade do esmalte dentário. 5. Técnicas *in vitro*. 6. Bebidas alcoólicas. I. Lima, Antonio Adilson Soares de. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD 617.1

TERMO DE APROVAÇÃO

ISABELLA ELOY DE SOUZA BARBARESCO DAMIANI

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO

ESTUDO *IN VITRO* DO POTENCIAL EROSIVO DE BEBIDAS ALCÓOLICAS NA
SUPERFÍCIE DO ESMALTE BOVINO

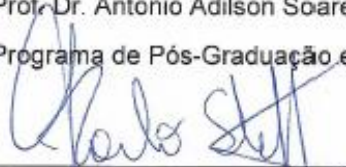
Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre no Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:

Orientador:



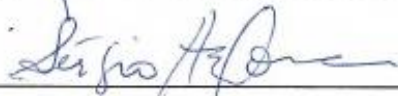
Prof. Dr. Antonio Adilson Soares de Lima

Programa de Pós-Graduação em Odontologia, UFPR



Prof. Dr. João Paulo Steffens

Programa de Pós-Graduação em Odontologia, UFPR



Prof. Dr. Sérgio Adriane Bezerra de Moura

Departamento de Morfologia, UFRN

Dedico este trabalho:

Aos meus pais, **Angela** e **Antonio** e à minha irmã **Antonella**, por me ensinarem o real significado de família e por apoiarem meus estudos em meio a tantas dificuldades. Sem vocês nada disto seria possível, sou imensamente grata.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a **Deus** pelo dom da vida, por me presentear com pessoas e momentos maravilhosos e por me dar forças para vencer os inúmeros desafios da vida.

A toda minha **família**, por acreditar em mim e por ser minha fonte de felicidade e paz. O amor que sinto por vocês é infinito e minha caminhada seria solitária sem o carinho de vocês.

Ao **Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Paraná**, a todos os seus docentes e funcionários, pela oportunidade de me permitir cursar o mestrado e pelo compartilhamento de conhecimentos e experiências.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Antonio Adilson Soares de Lima**, por toda a paciência e dedicação a este trabalho. Você é, para mim, um exemplo de profissional e professor, meu aprendizado foi contínuo durante esta jornada e me considero uma pessoa de sorte por ter sua orientação.

Ao Professor **Sergio Henke**, da engenharia mecânica da UFPR, por me permitir utilizar o laboratório e equipamentos durante o projeto piloto.

A Professora **Carolina Bruzamolin**, por toda a ajuda e suporte durante o mestrado. Você literalmente me pegou pela mão e me ensinou os processos laboratoriais. Eu não teria conseguido sem o seu auxílio. Agradeço imensamente ter te encontrado.

À **Universidade Positivo**, em especial ao Professor **Giuliano Breda**, da engenharia mecânica, à secretária **Yvina Lima** e aos laboratoristas **Márcio Medeiros** e **Rodrigo Crovador**. Vocês abriram as portas da Universidade e me fizeram sentir em casa mesmo estando em um lugar novo e desconhecido.

Ao **Frigorífico Argus** e a todos os seus funcionários, em especial à veterinária **Lilian** e ao funcionário **Antonio**, pela ajuda e pela doação de dentes para a minha pesquisa.

A todos os **amigos** e **colegas** do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFPR, pelo companheirismo durante esta jornada, em especial ao **Joslei Bohn**, **Patricia Kochany** e **Gisele Marchetti**.

Aos meus tios **Katia Damiani** e **Rubens Coelho**, poderia agradecê-los por inúmeras coisas, mas neste momento, em especial, por terem trazido o disco de corte diamantado dos EUA. Eu os amo e gostaria de tê-los mais perto.

À **CAPES** pela oportunidade de bolsa durante grande parte do mestrado.

Ao Prof. Dr. **Marco Grassi** e à mestranda **Loana Baika**, do Departamento de Química da UFPR, pelo acolhimento e receptividade em todos os momentos em que lá estive. Além de excelentes profissionais vocês são pessoas maravilhosas.

Ao **Centro de Microscopia Eletrônica** da UFPR e a todos os seus funcionários, em especial ao técnico **Deonir Agustini**. Pelo caprichoso trabalho que desempenha e pela inesgotável paciência durante as longas noites de análises laboratoriais.

Ao **Cassiano Chaiben**, pelo vasto trabalho com a bioestatística, o meu muito obrigado.

Ao professor **Ademir Franco do Rosário Junior**, por me ajudar a encontrar as referências bibliográficas.

Ao professor **Sérgio Moura** da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, pelo auxílio para interpretar as imagens do microscópio.

As minhas amigas de infância, **Nicole Lima, Larissa Boaron, Alyssa Sabin, Maria Eduarda Guimarães, Amanda Nepomuceno, Natalya Maldonado e Leticia Krebsbach**. Vocês estiveram ao meu lado em todos os momentos, bons e ruins e tornaram minha caminhada mais amena. Não poderia deixar de agradecê-las pelos anos de amizade, companheirismo e por compreenderem, muitas vezes, a minha ausência. Vocês são verdadeiros presentes de Deus em minha vida.

Aos professores **João Paulo Steffens** e **Bruno Cavenago** pelas considerações e correções na banca de qualificação.

MERAKI (v);

Palavra grega que tem como significado fazer com a alma, dedicação e amor, colocar parte de si em algo.

RESUMO

As bebidas alcoólicas são muito populares e consumidas mundialmente. Indivíduos que consomem habitualmente este tipo de bebida geralmente apresentam uma prevalência maior de erosão dentária. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial erosivo *in vitro* de três diferentes bebidas alcoólicas comercializadas no Brasil no esmalte dentário bovino. Dentes bovinos foram seccionados em blocos de 4 mm x 4 mm cada, totalizando 144 amostras de esmalte. As amostras eram divididas em três grupos experimentais (cerveja, vodka e cachaça) e um controle (água destilada). Metade de cada amostra foi coberta com fita adesiva (lado controle) deixando exposto uma área de 2 mm x 2 mm (lado experimental). Cada amostra ficou imersa separadamente em 10 mL das respectivas bebidas por 1, 12 ou 24 horas (n=12). O pH, a concentração de cálcio e fósforo liberadas nas bebidas, a microdureza superficial e a topografia foram avaliadas. As bebidas alcoólicas avaliadas apresentaram um pH ácido, com exceção do pH inicial da vodka. Houve uma correlação negativa forte entre a microdureza e o tempo de exposição dos grupos experimentais (r Cerveja = -0,95/ r Vodka = -0,85/ r Cachaça = -0,92). Em todos os grupos experimentais houve diferença significativa da microdureza após 12 e 24 horas de exposição ($p < 0,001$) quando se comparou a microdureza inicial com a final do lado experimental. Ocorreu o aumento da concentração de cálcio e fósforo nas bebidas com o passar do tempo nos grupos experimentais. Houve diferença estatisticamente significativa quando comparada a concentração desses dois minerais após 1 hora de exposição com os demais tempos para os grupos da vodka e da cachaça (Cálcio e Fósforo) e no grupo da cerveja apenas para a concentração de cálcio. A topografia do esmalte exposto às diferentes bebidas era mais irregular quando comparado ao do lado controle. Todas as bebidas alcoólicas avaliadas afetaram negativamente a estrutura do esmalte dentário *in vitro*, causando erosão dentária em diferentes padrões.

Palavras-chave: Esmalte Dentário. Erosão Dentária. Desmineralização do Dente. Solubilidade do Esmalte Dentário. Técnicas *in vitro*. Bebidas Alcoólicas.

ABSTRACT

Alcoholic beverages are very popular and consumed Worldwide. Individuals who regularly consume this type of drink usually have a higher prevalence of erosion. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* erosive potential of bovine dental enamel from three different alcoholic beverages sold in Brazil. Bovine teeth were sectioned in blocks of 4 mm x 4 mm each, totaling 144 enamel samples. The samples were divided into three experimental groups (beer, vodka and “cachaça”) and one control group (distilled water). Half of each sample was covered with adhesive tape (control side) leaving exposed an area of 2 mm x 2 mm (experimental side). Each sample was immersed separately in 10 mL of the respective beverages for 1, 12 or 24 hours (n=12). The pH, concentration of calcium and phosphorus lost in beverages, surface microhardness and enamel topography were evaluated. The alcoholic beverages evaluated had an acidic pH, except for the initial pH of vodka. There was a strong negative correlation between the microhardness and the exposure time of the experimental groups (r Beer= -0,95/ r Vodka = -0,85/ r Cachaça = -0,92). In all experimental groups, there was a significant difference in microhardness after 12 and 24 hours of exposure when the initial microhardness was compared with the final of the experimental side (p<0.001). The concentration of calcium and phosphorus increased in the beverages over time in the experimental groups. There was a statistically significant difference when the concentration of these two minerals was compared after 1 hour with the other times for the vodka and cachaça groups (Calcium and Phosphorus) and in the beer group only for the calcium concentration. The topography of the enamel exposed to the different beverages was more irregular when compared to the control side. All evaluated alcoholic beverages affected negatively the dental enamel structure *in vitro*, causing dental erosion in different patterns.

Keywords: Dental Enamel. Tooth Erosion. Tooth Demineralization. Dental Enamel Solubility. *In vitro* Techniques. Alcoholic Beverages.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	PROPOSIÇÃO.....	18
2.1	OBJETIVO GERAL.....	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3	REFERÊNCIAS	19
4	ARTIGO.....	26
4.1	PÁGINA DO TÍTULO.....	26
4.2	RESUMO.....	28
4.3	INTRODUÇÃO	29
4.4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.4.1	PROTOCOLO DE EROÇÃO.....	30
4.4.2	GRUPOS TESTADOS.....	31
4.4.3	MENSURAÇÃO DA EROÇÃO.....	32
4.4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
4.5	RESULTADOS.....	35
4.5.1	pH.....	35
4.5.2	MICRODUREZA.....	35
4.5.3	MORFOLOGIA DO ESMALTE BOVINO.....	35
4.5.4	TOPOGRAFIA.....	35
4.5.5	CONCENTRAÇÃO DE CÁLCIO E FÓSFORO.....	35
4.6	DISCUSSÃO.....	37
4.7	CONCLUSÕES.....	41
4.8	CONFLITO DE INTERESSES.....	41
4.9	AGRADECIMENTOS.....	41
4.10	REFERÊNCIAS.....	41
4.11	TABELAS.....	48
4.11.1	TABELA 1.....	48
4.11.2	TABELA 2.....	49
4.11.3	TABELA 3.....	50
4.11.4	TABELA 4.....	51
4.11.5	TABELA 5.....	52
4.11.6	TABELA 6.....	53
4.12	FIGURAS.....	54
4.12.1	FIGURA 1.....	54
4.12.2	FIGURA 2.....	55
4.12.3	FIGURA 3.....	56
4.12.4	FIGURA 4.....	57
5	ANEXOS.....	58
5.1	ANEXO 1 – AUTHOR GUIDELINES.....	58
5.2	ANEXO 2.....	65
5.3	ANEXO 3.....	66
6.0	REFERÊNCIAS FINAIS.....	67

1. INTRODUÇÃO

O álcool é uma substância psicoativa capaz de produzir dependência. O seu consumo e consequentes problemas são muito variados mundialmente. O uso nocivo dessa bebida é um fator causal de mais de 200 condições e lesões, e um risco para o desenvolvimento de problemas de saúde, tais como a cirrose hepática e o câncer (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2014). Além de consequências no âmbito da saúde, o consumo do álcool pode ter repercussões graves na esfera social e econômica. Mundialmente estima-se que indivíduos acima de 15 anos de idade consumam, em média, 6,2 litros de álcool puro por ano. No Brasil, essa média é superior, sendo esse consumo de 7,5 a 9,9 litros por ano (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2014).

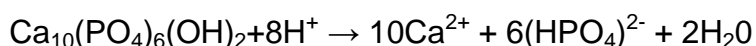
Com relação à saúde bucal, sabe-se que a ingestão de bebidas alcoólicas é um fator de risco para o câncer de boca e o risco para essa doença aumenta de acordo com a quantidade consumida (SANKARANARAYANAN *et al.*, 2015). Outras manifestações bucais têm sido notadas em indivíduos dependentes de álcool. Um estudo desenvolvido por Enberg *et al.* (2001) comparou a saúde dental de um grupo de dependentes de álcool com a de pessoas que bebiam apenas socialmente. Os dependentes de álcool apresentaram maior experiência de cárie, bolsas infra-ósseas e perda óssea horizontal. Em 1999, Pedreira *et al.* investigaram as condições de saúde bucal de dependentes químicos em recuperação. O grupo que consumia apenas álcool apresentou o maior índice de Cariado Perdido ou Obturado por dente (CPOD=27,83), ressaltando-se que, a maior porcentagem de dentes perdidos foi neste grupo (34,52). Os outros grupos desse estudo apresentaram número de dentes perdidos igual a 23,47 (grupo da maconha associada ao álcool), 17,86 (grupo do crack ou heroína associados) e 14,64 (grupo da cocaína e drogas associadas).

O álcool também parece ter um efeito prejudicial nos tecidos duros dentários conforme sugere o estudo de Manarte *et al.* (2009). Estes autores avaliaram a ocorrência e severidade da erosão dental em pacientes alcoólatras em processo de desintoxicação. Os resultados deste estudo revelaram que esses indivíduos apresentaram uma alta experiência e baixa severidade de erosão dentária. As

superfícies palatinas dos dentes da maxila, as faces oclusais dos dentes posteriores e as bordas incisais dos dentes anteriores foram os locais mais afetados.

A pesquisa de Chikte *et al.* (2005) também mostrou o efeito negativo do vinho sobre a estrutura dentária. A presença e a severidade da perda de superfície dentária de enólogos foram avaliadas e comparadas a de não consumidores de vinho. A prevalência e a severidade da perda de superfície dentária foram maiores no grupo frequentemente exposto ao vinho. Baseado neste resultado, os autores concluíram que a exposição rotineira a essa bebida é prejudicial ao esmalte dentário e um risco ocupacional para a profissão investigada. Em 1998, Gray descreveu o caso de um paciente em que a erosão dentária foi resultado do habitual consumo de vinho. O paciente estava envolvido no comércio de vinho há 10 anos e fazia degustação diária de 20 vinhos, em média. Clinicamente, ele apresentava erosão cervical, depressões oclusais e uma perda de esmalte dentário ao redor das restaurações.

A estrutura dentária após completamente formada pode ser perdida por diversas causas (AMARAL *et al.*, 2012). Um desses fatores é a erosão dentária. Ela é definida como a perda do tecido duro dental sem o envolvimento bacteriano, devido à ação ácida e/ou quelante (IMFELD, 1996). Ela ocorre como uma perda da estrutura dentária, onde os íons de hidrogênio do ácido em contato com a superfície do dente promovem a dissolução dos cristais de esmalte (LUSSI *et al.*, 2008). Segundo a Lei de Ação de Massa, citado por Stefański *et al.* (2013), os componentes da hidroxiapatita na presença de ácido se dissolvem de acordo com a seguinte equação:



O esmalte desmineralizado tem o potencial de se remineralizar quando em contato com a saliva (EISENBURGER *et al.*, 2000). No entanto, quando o fluxo salivar é baixo a limpeza e a neutralização dos ácidos é inadequada (JARVINEN *et al.*, 1991). O potencial hidrogeniônico (pH) considerado crítico para a dissolução do esmalte dentário é igual a 5,5 (SEOW *et al.*, 2005). Na presença de flúor o esmalte fica mais resistente ao ataque ácido e o pH crítico passa a ser 4,5 (MOUNT, 2003).

A erosão dentária é um processo multifatorial, envolvendo fatores químicos, biológicos e comportamentais (LUSSI *et al.*, 2008). Os ácidos responsáveis pelo

processo de erosão são provenientes de fontes extrínsecas, ocupação ou de fontes intrínsecas (IMFELD, 1996). As fontes extrínsecas mais comuns para o desenvolvimento dessa lesão são as bebidas e alimentos ácidos (IMFELD, 1996) e existem evidências de que esses elementos têm importante papel no desenvolvimento da erosão (LUSSI *et al.*, 2004).

Diversas técnicas estão disponíveis para a avaliação da perda dentária resultante da erosão, tais como: a microdureza, perfilometria, microradiografia, análises químicas, diferentes técnicas microscópicas e espectroscopia de massa iônica (BARBOUR *et al.*, 2004). A microdureza é amplamente utilizada para essas mensurações, uma vez que, o amolecimento da superfície do dente (manifestação inicial da erosão) pode ser quantificado por meio desta técnica (BARBOUR *et al.*, 2004). Vale ressaltar que, apenas as propriedades mecânicas das amostras são avaliadas neste tipo de análise (KIM *et al.*, 2016). Diversos estudos já demonstraram a diminuição da microdureza superficial, após a exposição a bebidas potencialmente erosivas (SEOW *et al.*, 2005; HARA *et al.*, 2008; LUSSI *et al.*, 2012). Este fato reforça a ideia de que a redução mineral dentária pode ser monitorada pela microdureza (BARBOUR *et al.*, 2007).

Informações sobre a morfologia de uma amostra sólida, tal como o esmalte dentário, pode ser realizada por meio do microscópio eletrônico de varredura (MEV) (DEDAVID *et al.*, 2007). Este recurso emite um feixe de elétrons no lugar de fótons utilizados em um microscópio óptico convencional, resultando em um aparelho que permite aumentos de 300.000 vezes ou mais, conservando a profundidade de campo compatível com a observação de superfícies rugosas (DEDAVID *et al.*, 2007). Esta técnica torna-se muito útil para avaliação de superfícies erodidas, visto que, já foi demonstrado que algumas bebidas foram capazes de modificar a superfície de materiais dentários e do esmalte (BARAC *et al.*, 2015; KARDA *et al.*, 2016).

O esmalte dentário tem cerca de 16-18% (g por 100 gramas) de fósforo (peso seco) e 34-39% de cálcio (TEN CATE *et al.*, 2003). Devido a isso, a taxa de erosão também pode ser mensurada pelo conteúdo mineral que foi dissolvido da hidroxiapatita nas bebidas, como o fosfato e o cálcio (BARBOUR *et al.*, 2004; HANNIG *et al.*, 2005). A concentração destes minerais nas bebidas também se relaciona com o potencial erosivo (HANNIG *et al.*, 2005). Lussi *et al.* (2011) encontraram que o fósforo era melhor preditor da desmineralização do que o cálcio.

Entretanto, no estudo de Hara *et al.* (2008), a concentração de cálcio foi melhor preditor da erosão. Desta forma, ainda é difícil concluir qual mineral seria o melhor preditor, mas a literatura demonstra que ambos são estudados.

Existem diversas técnicas possíveis para análise desses minerais nas bebidas ou em outras substâncias relatadas na literatura, tais como: os eletrodos específicos para íons, espectrofotometria, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICPOES – *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*) e a absorção atômica (BARBOUR *et al.*, 2004; HARA *et al.*, 2008; MOHAMMED *et al.*, 2014).

O potencial erosivo das bebidas está atrelado a diversos fatores, como o tipo de ácido presente na bebida, a concentração do ácido, a temperatura, a duração que a bebida é mantida na boca, a capacidade tampão da saliva, o pH e a acidez titulável (BENJAKUL *et al.*, 2011). O pH tem sido citado como um determinante primário na dissolução do esmalte (LARSEN *et al.*, 1999; BARBOUR *et al.*, 2007) e já foi correlacionado o potencial erosivo das bebidas com um baixo pH (SEOW *et al.*, 2005; BENJAKUL *et al.*, 2011).

Diversas pesquisas foram realizadas para avaliar o potencial erosivo de bebidas alcoólicas e não alcoólicas usando distintas metodologias. Numa pesquisa realizada por Barac *et al.* (2015), todas as bebidas avaliadas (Coca-cola™, suco de laranja, Guaraná e Cedevita) com exceção do iogurte, mostraram-se potencialmente erosivas e com significativa relação com o pH. Sobral *et al.* (2000) investigaram diferentes sucos de frutas e todos foram considerados potencialmente erosivos por apresentarem um valor abaixo do pH crítico para a desmineralização dentária (pH=5,5).

As pesquisas realizadas com bebidas alcoólicas mostraram-se, na maioria das vezes, prejudiciais a estrutura dentária. Como no estudo de Kumar *et al.* (2013), onde o uísque foi capaz de dissolver o cálcio das superfícies dos dentes. Além disso, após o consumo de vinho e de uísque, o fosfato inorgânico presente na saliva dos indivíduos participantes teve a sua concentração elevada. Isto sugere que, a acidez destas bebidas alcoólicas pode dissolver a hidroxiapatita do esmalte dentário liberando cálcio e fosfato inorgânico.

O estudo de Lussi *et al.* (2012) avaliou diversas bebidas alcoólicas, dentre elas: espumante, cervejas, vodcas, vinho branco e tinto. Todas essas bebidas se revelaram ácidas, apresentando um pH igual ou inferior a 4,2. A microdureza das

amostras de dentes humanos extraídos também foi avaliada antes e após o contato com as bebidas. O padrão encontrado no grupo das bebidas alcoólicas foi bem diferenciado dos demais, visto que, algumas bebidas não produziram nenhuma alteração significativa na dureza superficial das amostras e outras causavam uma redução significativa, como uma marca de cerveja, o vinho branco e a vodka.

Outro tipo de bebida alcoólica que foi analisada e apresentou efeitos deletérios sobre a estrutura dentária são os *alcopops*. Essas bebidas com sabor doce, que tem como públicos-alvo adolescentes e adultos jovens são muito populares (METZNER *et al.*, 2008). Na literatura há um relato de caso em que o consumo excessivo dessas bebidas (que tem baixo pH) resultou em erosão dentária (O'SULLIVAN *et al.*, 1998). O estudo de Ablal *et al.* (2009) investigou o potencial erosivo deste tipo de bebida usando esmalte dentário bovino. Foram escolhidas quatro diferentes bebidas, dentre elas *Bacardi Breezer™ Orange Flavour*, *Smirnoff Ice™*, *Archers Schnappsqua™ Peach Flavour* e *Bacardi Breezer™ half sugar Raspberry Flavour*. Os resultados revelaram que todas possuíam a média de pH ácido (variando de 3,63 a 2,95) e demonstraram efeito erosivo significativo, além de provocarem considerável perda de esmalte dentário após 24 horas de exposição.

O consumo de bebidas alcoólicas no Brasil apresentou crescimento na quantidade de doses ingeridas pela população, tanto no gênero masculino quanto no feminino. Nos dias em que se costuma beber, são ingeridas cinco doses ou mais de álcool. A frequência de consumo também aumentou e existe um crescimento na precocidade do consumo regular dessas bebidas (LARANJEIRA *et al.*, 2014).

A cerveja é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo (BRASIL, 2009). Atualmente, ela é a terceira bebida mais consumida no mundo (MARDEGAN *et al.*, 2013). O consumo per capita desta bebida no Brasil é de aproximadamente 67 litros de cerveja/habitante/ano. Desta forma, o país ocupa a 24ª posição do ranking de consumo per capita mundial (CERVIERI JÚNIOR *et al.*, 2014). Em 2012, a produção brasileira de cerveja chegou a 132.800 milhões de hectolitros, classificando-o como o terceiro maior produtor mundial (CERVIERI JÚNIOR *et al.*, 2014).

A literatura é bem heterogênea com relação à cerveja e a erosão dentária. O estudo de Zanatta *et al.* (2016) avaliou três diferentes marcas comerciais de cerveja e, apenas uma foi capaz de causar a redução da microdureza após 30 e 60 minutos

de exposição. No estudo de Lussi *et al.*(2012), a marca comercial de cerveja Carlsberg não produziu nenhuma mudança na microdureza superficial até o final do experimento. Por outro lado, a marca Eichhof demonstrou potencial erosivo dentro de três a quatro minutos. Um padrão erosivo distinto é observado nas bebidas alcoólicas, pois algumas bebidas não provocaram mudanças na microdureza até o final do experimento enquanto outras tiveram esse potencial.

A cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana-de-açúcar produzida no Brasil, apresentando características sensoriais peculiares. A graduação alcoólica varia de 38% a 48%, a 20°C, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, podendo ser adicionado açúcares em até seis gramas por litro. Quando a cachaça contiver açúcares entre seis e trinta gramas por litro será denominada de cachaça adoçada (BRASIL, 2009). A capacidade de produção brasileira de cachaça chega à ordem de 1,4 bilhões de litros anuais (CERVIERI JÚNIOR *et al.*, 2014). É a segunda bebida alcoólica mais consumida pelos brasileiros, perdendo apenas para a cerveja e é a favorita entre as bebidas destiladas (GOMES, 2004). Em 2014, Bastos *et al.* observaram que o consumo desta bebida teve efeito prejudicial sobre o osso alveolar de ratos. Mesmo sem a presença de ligaduras, que induzem a perda óssea alveolar, esta bebida foi capaz de afetar o osso alveolar, aumentando a perda óssea e reduzindo a densidade óssea. Desta forma, acredita-se que a cachaça seja capaz de causar perda óssea por si mesma, independentemente da presença de biofilme. Por outro lado, a dependência de álcool (na concentração de 15%) não foi capaz de alterar a perda óssea alveolar em ratos com ou sem a presença de ligaduras (WAGNER *et al.*, 2016). Até a presente data e nas bases de dados consultadas, não foram encontrados estudos sobre o potencial erosivo da cachaça. No entanto, o Rum que também é uma bebida alcoólica cuja matéria-prima é a cana-de-açúcar (BRASIL, 2009) foi capaz de promover uma perda de esmalte significativa (JAGER *et al.*, 2008).

A vodca é a bebida com graduação alcoólica de 36 a 54% em volume, obtida de álcool etílico potável de origem agrícola ou de destilado alcoólico simples de origem agrícola retificado. Como forma de atenuar os caracteres organolépticos da matéria-prima original, a produção dessa bebida pode ser submetida ou não a filtração por meio de carvão ativo (BRASIL, 2009). Globalmente, 50% do álcool consumido são bebidas do tipo *spirit* (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE,

2014). Esse tipo de bebida contém pelo menos 15% de álcool etílico, sua produção direta se dá por meio da destilação ou da maceração e estão incluídos nesta categoria a vodca e o uísque (WISNIEWSKA *et al.*, 2015). No estudo de Lussi *et al.* (2012), a vodca avaliada produziu significativa redução na microdureza superficial das amostras.

O consumo de álcool é um fator que deve ser levado em consideração no processo da erosão, pois o estudo de Smith *et al.* (1989) mostrou que grande parte dos alcoolistas avaliados apresentou lesões erosivas. Além disso, outro estudo demonstrou a associação entre a erosão e a exposição ao álcool (HEDE, 1996). Também é possível encontrar outras associações com o consumo de álcool e a saúde bucal. No estudo de Hornecker *et al.* (2003), por exemplo, alcoolistas severos apresentaram extenso dano periodontal e um grande número de dentes ausentes. O efeito negativo do álcool na saúde bucal é muito pesquisado, especialmente sua relação com câncer de tecidos moles (BLOT *et al.*, 1988; JOHNSON, 2001; CANOVA *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2017). Entretanto, ainda há a necessidade de maiores esclarecimentos a cerca dos efeitos das bebidas alcoólicas sobre os tecidos duros dentários e, conseqüentemente, no processo erosivo.

2. PROPOSIÇÃO

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar as possíveis perdas minerais e alterações morfológicas causadas por diferentes tipos de bebidas alcoólicas no esmalte dentário de dentes bovinos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Após a exposição a três diferentes bebidas alcoólicas, este estudo pretende:

- Determinar as alterações morfológicas na superfície dentária por meio da microscopia eletrônica de varredura.
- Determinar alterações na topografia da superfície do esmalte dentária por meio do Software *3D Measurement of SEM image Mex*, version 5.1.
- Investigar as alterações na microdureza da superfície do esmalte dentário.
- Quantificar os minerais cálcio e fósforo liberados do esmalte bovino por meio da espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.
- Determinar se houve correlação do tempo de exposição com a microdureza do esmalte.

3. REFERÊNCIAS

ABLAL, M. A.; KAUR, J. S.; COOPER, L.; JARAD, F. D.; MILOSEVIC, A.; HIGHAM, S. M.; PRESTON, A. J. The erosive potential of some alcopops using bovine enamel: An in vitro study. **J Dent**, England, v. 37, p. 835-839. 2009.

AMARAL, S. M.; ABAD, E. C.; MAIA, K. D.; WEYNE, S.; OLIVEIRA, M. P. R. P. B.; TUNÃS, I. T. C. Lesões não cariosas: o desafio do diagnóstico multidisciplinar. **Arq Int Otorrinolaringol**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 96-102. 2012.

BARAC, R.; GASIC, J.; TRUTIC, N.; SUNARIC, S.; POPOVIC, J.; DJEKIC, P.; RADENKOVIC, G.; MITIC, A. Erosive effect of different soft drinks on enamel surface in vitro: application of stylus profilometry. **Med Princ Pract**, Switzerland, v. 24, p. 451-457. 2015.

BARBOUR, M. E.; FINKE, M.; PARKER, D. M.; HUGHES, J. A.; ALLEN, G.C.; ADDY, M. The relationship between enamel softening and erosion caused by soft drinks at a range of temperatures. **J Dent**, England, v. 34, p. 207-213. 2006.

BARBOUR, M. E.; REES, J. S. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. **J Dent**, England, v. 32, p. 591-602. 2004.

BARBOUR, M. E.; SHELLIS, R. P. An investigation using atomic force microscopy nanoindentation of dental enamel demineralization as a function of undissociated acid concentration and differential buffer capacity. **Phys Med Biol**, England, v. 52, p. 899-910. 2007.

BASTOS, M. F.; GAAG, G. L. D.; ROMERO, J. R.; GABRILI, J. J. M.; MARQUES, M. R.; DUARTE, P. M. Effects of cachaça, a typical Brazilian alcoholic beverage, on alveolar bone loss and density: a study in peripubertal rats. **Arch Oral Biol**, England, v. 59, p. 82-91. 2014.

BENJAKUL, P.; CHUENARROM, C. Association of dental enamel loss with the pH and titratable acidity of beverages. **J Dent Sci**, Netherlands, v. 6, p. 129-133. 2011.

BLOT, W. J.; MCLAUGHLIN, J. K.; WINN, D. M.; AUSTIN, D. F.; GREENBERG, R. S.; PRESTON-MARTIN S.; et al. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. **Cancer Res**, United States, v. 48, p. 3282-3287, June. 1988.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Presidência da República, Casa Civil, Subchefia para Assuntos Jurídicos. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm> Acesso em: 21 de abril 2017.

CANOVA, C.; RICHIARDI, L.; MERLETTI, F.; PENTENERO, M.; GERVASIO, C.; TANTURRI, G.; GARZINO-DEMO, P.; PECORARI, G.; TALAMINI, R.; BARZAN, L.; *et al.* Alcohol, tobacco and genetic susceptibility in relation to cancers of the upper aerodigestive tract in northern Italy. **Tumori**, Italy, v. 96, p. 1-10, 2010.

CERVIERI JÚNIOR, O.; JÚNIOR, J. R. T.; GALINARI, R.; RAWET, E. L.; SILVEIRA, C. T. J. **O setor de bebidas no Brasil**. Rio de Janeiro: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social, 2014. Disponível em: <<https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/3462>>. Acesso em: 21 de abril 2017.

CHEN, F.; YAN, L.; LIN, L.; LIU, F.; QIU, Y.; WANG, J.; WU, J.; LIU, F.; HUANG, J.; CAI, L.; HE, B. Dietary score and the risk of oral cancer: a case-control study in southeast china. **Oncotarget**, March 29, 2017. Disponível em: <www.impactjournals.com/oncotarget>. Acesso em: 20 de abril 2017.

CHIKTE, U. M.; NAIDOO, S.; KOLZE, T.J.; GROBLER, S. R. Patterns of tooth surface loss among winemakers. **SADJ**, South Africa, v. 60, n. 9, p. 370-374, Oct. 2005.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura : aplicações e preparação de amostras : materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. Porto Alegre, EDIPUCRS, 2007. Disponível em: <<http://www.pucrs.br/edipucrs/online/microscopia.pdf>>. Acesso em: 21 de abril 2017.

EISENBURGER, M.; HUGHES, J.; WEST, N. X.; JANDT, K. D.; ADDY, M. Ultrasonication as a method to study enamel demineralization during acid dissolution. **Caries Res**, Switzerland, v. 34, n. 4, p.289–294, jul./aug. 2000.

ENBERG, N.; WOLF, J.; AINAMO, A.; ALHO, H.; HEINALA, P.; LENANDER-LUMIKARI, M. Dental diseases and loss of teeth in a group of Finnish alcoholics: a

radiological study. **Acta Odontol Scand**, England, v. 59, n. 6, p. 341-347, Dec. 2001.

GLOBAL STATUS REPORT ON ALCOHOL AND HEALTH. **World Health Organization**, Printed in Luxembourg. 2014. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112736/1/9789240692763_eng.pdf>. Acesso em: 21 de abril 2017.

GOMES, W. O. O perfil da cachaça. Biblioteca Digital do SEBRAE – BDS, 2004. Disponível em: <<http://bis.sebrae.com.br/conteudoPublicacao.zhtml?id=117>>. Acesso em: 21 de abril 2017.

GRAY, A.; FERGUSON, M. M.; WALL, J. G. Wine tasting and dental erosion. Case report. **Aust Dent J**, Australia, v. 43, n.1, p.32-34, Feb. 1998.

HANNIG, C.; HAMKENS, A.; BECKER, K.; ATTIN, R.; ATTIN, T. Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro. **Arch Oral Biol**, England, v. 50, p. 541-552. 2005.

HARA, A. T.; ZERO, D. T. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. **Eur J Oral Sci**, England, v. 116, p. 60-65, Feb. 2008.

HEDE, B. Determinants of oral health in a group of Danish alcoholics. **Eur J Oral Sci**, England, v. 104, p. 403-408, 1996.

HORNECKER, E.; MUUB, T.; EHRENREICH, H.; MAUSBERG, R. F. A pilot study on the oral conditions of severely alcohol addicted persons. **J Contemp Dent Pract**, India, v. 4, n. 2, p. 1-7, May. 2003.

HOU, X.; JONES, B. T. **Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry**. Encyclopedia of Analytical Chemistry. Published Online: 13 Jun 2008. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470027318.a5110.pub2/abstract>>. Acesso em: 22 de abril de 2017.

IMFELD, T. Dental Erosion: definition, classification and links. **Eur J Oral Sci**, England, v. 104, n. 2, p. 151-155, Apr. 1996.

JAGER, D.H.J.; VIEIRA, A.M.; RUBEN, J.L.; HUYSMANS, M.C.D.N.J.M. Influence of beverage composition on the results of erosive potential measurement by different measurement techniques. **Caries Res**, Switzerland, v. 42, p. 98-104, 2008.

JARVINEN, V. K.; RYTOMAA, I. I.; HEINONEN, O. P. Risk factors in dental erosion. **J Dent Res**, United States, v. 70, n. 6, p. 942-947, June. 1991.

JOHNSON, N. Tobacco use and oral cancer: a global perspective. **J Dent Educ**, United States, v. 65, n. 4, p. 328-339, 2001.

KARDA, B.; JINDAL, R.; MAHAJAN, S.; SANDHU, S.; SHARMA, S.; KAUR, R. To analyse the erosive potential of commercially available drinks on dental enamel and various tooth coloured restorative materials – an in vitro study. **J Clin Diagn Res**, India, v. 10, n. 5, p. 117-121, May. 2016

KIM, I.; SON, J. S.; MIN, B. K.; KIM, Y. K.; KIM, K.; KWON, T. A simple, sensitive and non-destructive technique for characterizing bovine dental enamel erosion: attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopy. **Int J Oral Sci**, India, v. 8, p. 54-60, 2016.

KUMAR, S.; TADAKAMADLA, J.; TIBDEWAL, H.; DURAISWAMY, P.; KULKARNI, S. A pilot study into the effect of whisky, wine and beer consumption on tooth surface dissolution. **OHDM**, United States, v. 12, n. 3, p.151-154, Sept. 2013.

LARANJEIRA, R. *et al.* (Supervisão). II Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD) – 2012. São Paulo: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Políticas Públicas de Álcool e Outras Drogas (INPAD), UNIFESP. 2014. Disponível em: <http://inpad.org.br/wp-content/uploads/2014/03/Lenad-II-Relat%C3%B3rio.pdf>. Acesso em: 21 de abril 2017.

LARSEN, M. J.; NYVAD, B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. **Caries Res**, Switzerland, v. 33, p. 81-87, 1999.

LAURANCE-YOUNG, P.; BOZEC, L.; GRACIA, L.; REES, G.; LIPPERT, F.; LYNCH, R. J. M.; KNOWLES, J. C. A review of the structure of human and bovine dental hard tissues and their physicochemical behavior in relation to erosive challenge and remineralization. **J Dent**, England, v. 39, p. 266-272, 2011.

LUSSI, A.; JAEGGI, T. Erosion – diagnosis and risk factors. **Clin Oral Invest**, Germany, v. 12, p. 5-13, Mar. 2008.

LUSSI, A.; JAEGGI, T.; ZERO, D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. **Caries Res**, Switzerland, v. 38, p. 34-44, 2004.

LUSSI, A.; MEGERT, B.; SHELLIS, R. P.; WANG, X. Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. **Br J Nutr**, England, v. 107, p. 252-262, 2012.

LUSSI, A.; SCHLUETER, N.; RAKHMATULLINA, E.; GANSS, G. Dental erosion – An overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. **Caries Res**, Switzerland, v. 45, p. 2-12, 2011.

MANARTE, P.; MANSO, M. C.; SOUZA, D.; FRIAS-BULHOSA, J.; GAGO, S. Dental erosion in alcoholic patients under addiction rehabilitation therapy. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, Spain, v. 14, n. 8, p. 377-384, Aug. 2009.

MARDEGAN, S. F.; ANDRADE, T. M. B.; NETO, E. R. S.; VASCONCELLOS, E. B. C.; MARTINS, L. F. B.; MENDONCA, T. G.; MARTINELLI, L. A. Stable carbon isotopic composition of Brazilian beers—A comparison between large and small scale breweries. **J Food Compost Anal**, United States, v. 29, p. 52-57, 2013.

METZNER, C.; KRAUS, L. The impact of alcopops on adolescent drinking: a literature review. **Alcohol Alcohol Suppl**, England, v. 43, n. 2, p. 230-239, Oct. 2008.

MEURMAN, J. H.; TEN CATE, J. M. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. **Eur J Oral Sci**, England, v. 104, p. 199-206, 1996.

MOHAMMED, N. R.; MNEIMNE, M.; HILL, R. G.; AL-JAWAD, M.; LYNCH, R. J.; ANDERSON, P. Physical chemical effects of zinc on in vitro enamel demineralization. **J Dent**, England, v. 42, p. 1096-1104, 2014.

MOUNT, G. J. Minimal intervention dentistry: rationale of cavity design. **Oper Dent**, United States, v. 28, p. 92-99, 2003.

O'SULLIVAN, E. A.; CURZON, M. E. Dental erosion associated with the use of alcopop'--a case report. **Br Dent J**, England, v.184, p. 594-596, jun. 1998.

PEDREIRA, R. H. S.; REMENCIUS, L.; NAVARRO, M. F. L.; TOMITA, N. E. Condições de saúde bucal de drogaditos em recuperação. **Rev Odontol Univ São Paulo**, Brasil, v.13, n. 4, p.395-399, out./dez. 1999.

SANKARANARAYANAN, R.; RAMADAS, K.; AMARASINGHE H.; SUBRAMANIAN, S.; JOHNSON, N. Oral Cancer: Prevention, Early Detection, and Treatment. In: GELBAND, H.; JHA, P.; SANKARANARAYANAN, R.; et al., editors. **Cancer: Disease Control Priorities**. 3 ed. Washington (DC): The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank, 2015. Capítulo 5. Disponível em: <[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343649/doi: 10.1596/978-1-4648-0349-9_ch5](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343649/doi:10.1596/978-1-4648-0349-9_ch5)>. Acesso em: 21 de abril 2017.

SEOW, W. K.; THONG, K. M. Erosive effects of common beverages on extracted premolar teeth. **Aust Dent J**, Australia, v. 50, n. 3, p. 173-178, Sept. 2005.

SMITH, B. G. N.; ROBB, N. D. Dental erosion in patients with chronic alcoholism. **J Dent**, England, v. 17, p. 219-221, 1989.

SOBRAL, M. A. P.; LUZ, M. A. A. C.; GAMA-TEIXEIRA, A.; GARONE NETTO, N. Influência da dieta líquida ácida no desenvolvimento de erosão dental. **Pesq Odontol Bras**, Brasil, v. 14, n. 4, p. 406-410, out./dez. 2000.

STEFAŃSKI, T.; MALARA, P.; KLOC-PTASZNA, A.; JANOSZKA, B.; POSTEK-STEFAŃSKA, L.; TYRPIEŃ-GOLDER, K.; DOBRZAŃSKI, L. A. Erosive potential of calcium-supplemented citric acid on bovine enamel. **AMSE Review**, France, v. 64, n. 2, p. 175-181, Dec. 2013.

TEN CATE, J. M.; LARSEN, M. J.; PEARCE, E. I.; FEJERSKOV, O. **Chemical interactions between the tooth and oral fluids**. Copenhagen: Blackwell Munksgaard, 2003.

WAGNER, M. C.; ROCHA, J. M.; GAIO, E. J.; CAVAGNI, J.; CARRARD, V. C.; RÖSING, C. K. Effect of 15% alcohol dependence on alveolar bone loss and TNF- α secretion in Wistar rats. **Braz Dent J**, Brasil, v. 27, n. 2, p. 135-140, 2016.

WISNIEWSKA, P.; SLIWINSKA, M.; DYMERSKI, T.; WARDENCKI, W.; NAMIESNIK, J. Application of gas chromatography to analysis of spirit-based alcoholic beverages. **Crit Rev Anal Chem**, United States, v. 45, p. 201-225, 2015.

ZANATTA, R. F.; ESPER, M. A. L. R.; VALERA, M. C.; MELO, R. M.; BRESCIANI, E. Harmful effect of beer on bovine enamel microhardness – in vitro study. **PLOS ONE**, United States, v. 11, n. 10, p. 1-7, October 19, 2016. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0163440>>. Acesso em: 21 de abril 2017.

4. ARTIGO

4.1 - PÁGINA DO TÍTULO

ESTUDO *IN VITRO* DO POTENCIAL EROSIVO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS NA SUPERFÍCIE DO ESMALTE BOVINO.

Título curto: POTENCIAL EROSIVO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS NO ESMALTE BOVINO

Isabella Eloy de Souza Barbaresco Damiani^a

Carolina Dea Bruzamolín^b

Loana Mara Baika^c

Cassiano Lima Chaiben^d

Marco Tadeu Grassi^c

Antonio Adilson Soares de Lima^a

^aDepartment of Stomatology, School of Dentistry, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba/PR, Brazil.

^bDepartment of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Universidade Positivo – UP, Curitiba/PR, Brazil.

^cEnvironmental Analysis Laboratory, Department of Chemistry, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba/PR, Brazil.

^dSchool of Life Sciences, Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR, Curitiba/PR, Brazil.

Autor para correspondência:

Antonio Adilson Soares de Lima

Department of Stomatology

School of Dentistry - Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Rua Prefeito Lothário Meissner 632, Jardim Botânico

80170-210 Curitiba - PR Brasil

Telefone: + 55 41 33604026

E-mail: antollima@gmail.com / aas.lima@ufpr.br

Palavras-chave: Esmalte Dentário. Erosão Dentária. Desmineralização do Dente.

Solubilidade do Esmalte Dentário. Técnicas *in vitro*. Bebidas Alcoólicas.

4.2 – Resumo

ESTUDO *IN VITRO* DO POTENCIAL EROSIVO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS NA SUPERFÍCIE DO ESMALTE BOVINO

Objetivos: Avaliar o potencial erosivo *in vitro* de três diferentes bebidas alcoólicas comercializadas no Brasil no esmalte dentário bovino.

Métodos: Dentes bovinos eram seccionados em blocos de 4 mm x 4 mm cada, totalizando 144 amostras de esmalte. As amostras eram divididas em três grupos experimentais (cerveja, vodca e cachaça) e um controle (água destilada). Metade de cada amostra foi coberta com fita adesiva (lado controle) deixando exposto uma janela de 2 mm x 2 mm (lado experimental). O pH, a concentração de cálcio e fósforo perdidas nas bebidas, a microdureza superficial e a análise de topografia foram avaliadas. Cada amostra ficava imersa separadamente em 10 mL das respectivas bebidas por 1, 12 ou 24 horas (n=12).

Resultados: As bebidas alcoólicas avaliadas apresentaram um pH ácido, com exceção do pH inicial da vodca. Houve uma correlação negativa forte entre a microdureza e o tempo de exposição dos grupos experimentais (r Cerveja = -0,95/ r Vodca = -0,85/ r Cachaça = -0,92). Em todos os grupos experimentais houve diferença significativa ($p < 0,001$) da microdureza após 12 e 24 h de exposição. Ocorreu o aumento da concentração de cálcio e fósforo nas bebidas com o passar do tempo nos grupos experimentais, sendo estatisticamente significativo nos grupos da vodca e da cachaça para os dois minerais e no grupo da cerveja apenas para o cálcio. A topografia dos lados experimentais avaliados era mais irregular quando comparado ao lado controle.

Conclusões: Todas as bebidas alcoólicas avaliadas afetaram negativamente a estrutura do esmalte dentário *in vitro*, causando erosão dentária em diferentes padrões.

Significância Clínica: Este estudo mostra que diferentes bebidas alcoólicas têm potencial erosivo *in vitro*. Indivíduos que consomem grandes quantidades e rotineiramente estes tipos de bebidas podem ter maior risco de desenvolverem erosão.

4.3 – Introdução

O álcool é uma substância psicoativa capaz de produzir dependência. O uso nocivo dessa bebida é um fator causal para mais de 200 condições e lesões [1]. De acordo com os últimos dados do *National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism* [2], 15 milhões de adultos tiveram a desordem do uso do álcool. Isto inclui 9,8 milhões de homens e 5,3 milhões de mulheres.

Os alcoolistas ou aqueles profissionais que experimentam diariamente grandes quantidades de bebidas alcoólicas parecem ter uma saúde bucal mais comprometida quando comparado com outros grupos. Vários estudos já mostraram que os dependentes de álcool apresentaram uma maior experiência de cárie, de perda óssea alveolar, do percentual de dentes perdidos e extenso dano periodontal [3,4,5]. Existe também uma associação entre o consumo de bebidas alcoólicas com a erosão dentária [6,7,8]. Alguns estudos *in vitro* já demonstraram que determinadas bebidas alcoólicas têm efeito prejudicial sobre a estrutura dentária [9,10,11]. No estudo de Kumar *et al.* [12], por exemplo, o uísque foi capaz de dissolver o cálcio das superfícies dos dentes. Além disso, após o consumo de vinho e de uísque, o fosfato inorgânico presente na saliva dos participantes teve a sua concentração elevada. Isto sugeriu que, a acidez destas bebidas alcoólicas pode dissolver a hidroxiapatita do esmalte dentário liberando cálcio e fosfato inorgânico.

A estrutura dentária após completamente formada pode ser perdida por diversas causas [13]. Uma dessas causas é a erosão dentária. Ela é definida como a perda do tecido duro dentário sem o envolvimento bacteriano, devido à ação ácida e/ou quelante [14]. Esse fenômeno ocorre como uma perda da estrutura dentária, onde os íons de hidrogênio do ácido em contato com a superfície do dente promovem a dissolução dos cristais de esmalte [15]. A erosão dentária é um processo multifatorial que envolve fatores químicos, biológicos e comportamentais [15]. Os ácidos responsáveis pelo processo de erosão são provenientes da dieta, da ocupação ou de fontes intrínsecas [14]. O consumo excessivo de bebidas ácidas pode produzir a erosão dos tecidos duros dentários [16].

O potencial erosivo das bebidas está atrelado a diversos fatores, tais como: o tipo de ácido presente na bebida, a concentração do ácido, a temperatura, a duração que a bebida é mantida na boca, a capacidade tampão da saliva, o pH e a

acidez titulável [17]. O pH tem sido citado como um determinante primário na dissolução do esmalte [18,19] e já foi correlacionado o potencial erosivo das bebidas com um baixo pH [17,20]. Diversas bebidas alcoólicas (espumante, cervejas, vodcas, vinho branco e tinto) se revelaram ácidas, apresentando um pH igual ou inferior a 4,2 [10]. No Brasil, as bebidas alcoólicas mais consumidas pela população são a cerveja e a cachaça [21]. Entretanto, globalmente, 50% do álcool consumido são bebidas do tipo *spirit* [1], cuja produção direta se dá por meio da destilação ou da maceração e estão incluídos nesta categoria a vodca e o uísque [22].

O objetivo deste estudo foi investigar o potencial de desmineralização *in vitro* de três bebidas alcoólicas diferentes vendidas no Brasil (cachaça, cerveja e vodca) no esmalte dentário bovino. A hipótese nula é de que essas bebidas alcoólicas não são capazes de causar a erosão dentária na superfície do esmalte bovino.

4.4 – Materiais e métodos

4.4.1 - Protocolo de erosão

O presente estudo foi liberado da aprovação no Comitê de Ética no uso de Animais (CEUA) da UFPR embasando-se na Lei nº 11.794, de Outubro de 2008 (ANEXO 3). As amostras foram feitas a partir de incisivos permanentes extraídos de bovinos de um mesmo frigorífico, com bois nelorados de idade entre 1-3 anos. Depois de extraídos foram higienizados para remover qualquer sujidade, por meio da remoção de tecidos moles com lâmina de bisturi e lavagem em água corrente com escova de cerdas macias. Posteriormente, cada dente foi cuidadosamente examinado para excluir dentes com grandes defeitos (tais como fraturas e manchas hipoplásicas). Cento e quarenta e quatro amostras de espécimes de esmalte de 4 mm X 4 mm foram preparadas a partir destes dentes. Os dentes foram seccionados usando um disco diamantado de corte em uma cortadeira de precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, USA). Cada espécime era embutido individualmente em resina acrílica cristal quimicamente fotopolimerizável e, após a presa da resina, passavam por um processo de regularização superficial. Para isso, foi usada uma sequência de quatro lixas

d'água com granulação decrescente (400, 600, 1200 e 1500) sob refrigeração de água corrente e um disco de feltro para polimento final em uma politriz (Arotec, Aropol, São Paulo, SP, Brasil). Após esta etapa, as amostras foram lavadas com água destilada e escova de cerdas macias para remover qualquer detrito superficial.

Após a medição da microdureza inicial das amostras, metade de cada espécime foi coberta com fita adesiva, deixando assim uma área de 2 mm X 2 mm para o desafio erosivo. Desta forma, a superfície coberta servia como controle e a superfície exposta como experimental. Os espécimes foram alocados aleatoriamente para cada grupo. As amostras ficavam em contato com 10 mL de cada bebida teste em frascos separados por uma hora, 12 horas e 24 horas em temperatura ambiente de 26°C. Cada grupo tinha 12 espécimes testes, baseando-se em amostras de estudos anteriores [23,24,25].

4.4.2 – Grupos testados

As bebidas alcoólicas foram selecionadas de acordo com os seus valores de venda, visto que, as pessoas têm mais acesso a bebidas com baixos preços. Três bebidas alcoólicas diferentes popularmente consumidas no Brasil foram selecionadas e mais um grupo controle:

- Cachaça adoçada (CH), Marca comercial 51[®], teor alcoólico 39% (Companhia Müller de bebidas, Pirassununga, SP, Brasil).
- Vodca (VC), Marca comercial Natasha, teor alcoólico 38% (CRS Brands indústria e comércio Ltda., Cabo de Santo Agostinho, PE, Brasil).
- Cerveja (CJ), Marca comercial Skol, teor alcoólico 4,7% (Ambev S.A., F. Jaguariuna, SP, Brasil).
- Água destilada (H₂O) usada como controle.

O pH de cada bebida foi mensurado usando um peagâmetro (KR20, AKROM[®], São Leopoldo, RS, Brasil) previamente calibrado. Três soluções tampão foram utilizadas para calibrar o peagâmetro com pH 4.7, pH 10.0 e pH

7.0. O pH inicial (pH0) das bebidas era mensurado nas 36 amostras de cada grupo logo após a garrafa/lata ser aberta e colocado em frascos individuais, sendo:

- pH0- pH inicial das 36 amostras de cada grupo

O monitoramento do pH também foi realizado por meio das medições das bebidas após os respectivos tempos de exposição e da remoção das amostras de esmalte dos frascos individuais que continham as bebidas, sendo classificados em:

- pH1 = após uma hora de exposição (n =12).

- pH12 = após doze horas de exposição (n =12).

- pH24 = após vinte e quatro horas de exposição (n =12).

A mensuração do pH também foi realizada em amostras de bebidas dos 4 grupos testados. Essas bebidas não tiveram contato com os espécimes de dente embutidos em resina e as medições foram realizadas após 1 hora, 12 horas e 24 horas.

pH0= pH inicial das bebidas (n=12).

pH1= pH após 1 hora (n=12).

pH12= pH após 12 horas (n=12).

pH24= pH após 24 horas (n=12).

4.4.3 – Mensuração da erosão

A erosão foi mensurada por meio das seguintes técnicas:

- Microdureza – A microdureza inicial foi realizada no esmalte bovino antes da imersão das amostras nas bebidas e a final após a exposição das amostras nas bebidas por meio de um microdurômetro (Micro Vickers Hardness Testing Machines HM-200 Series, Mitutoyo Corporation, Kawasaki-shi, Kanagawa, Japan). Foi

utilizado um penetrador diamantado piramidal tipo VICKERS, com carga de 50g, aplicado por 5 segundos. Em cada espécime foram realizadas 20 indentações, sendo 10 no lado controle (5 indentações antes da imersão na bebida e 5 indentações após a imersão na bebida) e 10 no lado experimental (5 indentações antes da imersão na bebida e 5 indentações após a imersão na bebida).

- Microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliação da morfologia e topografia do esmalte – Para a observação das superfícies do esmalte dentário, as amostras foram removidas da resina, secas no vácuo (EM-DSC20 Vacuum Evaporator, JEOL Ltd, Akishima, Tokyo, Japan) e receberam uma fina camada de ouro (Balzers SCD 30, Bal-tecrmc, Tucson, AZ, USA). Na sequência, foram realizadas imagens com aumento de até 100.000 vezes no MEV (X-MAX 80, Oxford Instruments, Abingdon, Oxford, UK). O Software *3D Measurement of SEM imageMex*, version 5.1. (Alicona imaging, Raaba, Graz, Austria) foi utilizado para avaliar a topografia das superfícies de oito amostras com 24 horas de exposição (duas de cada grupo de bebidas) selecionadas aleatoriamente. Este software utiliza as imagens do MEV para apresentar um conjunto de dados em 3D altamente preciso, permitindo sua metrologia. As imagens das amostras foram ampliadas em 50.000 vezes para a reconstrução em 3D.

– Espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP OES) – Para a mensuração da quantidade de cálcio e fósforo do esmalte dentário perdidas nas bebidas foi utilizado o ICP OES (ICAP 6500, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), operando com visão axial. Uma curva analítica multi elementar foi preparada em meio de ácido nítrico 1% (v/v), incluindo a prova em branco, na faixa de 0,01 a 2,0 mg L⁻¹, a partir de diluições sucessivas de uma solução padrão contendo os analitos Ca e P. Os coeficientes de correlação lineares obtidos foram superiores a 0,99 para os elementos, atendendo assim, os critérios de linearidade. As amostras de cerveja foram diluídas em 20 vezes e as de cachaça e de vodca em 10 vezes, com auxílio de micropipeta. Foi utilizada água desionizada com resistividade de 18 MΩ cm obtida em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). As amostras referenciadas como iniciais, em todos os grupos avaliados, são da mesma marca, porém de outro lote. Para esta mensuração foram avaliadas 3 amostra para cada grupo (n=3).

4.4.4 - Análise estatística

Os dados foram digitalizados numa planilha do software *Excel for Windows* e analisados utilizando o pacote IBM SPSS Statistics 2.0 (IBM, Armonk, USA). Após o teste de normalidade dos dados, o teste de Pearson foi utilizado para correlacionar o tempo de exposição com a microdureza. O teste t foi empregado para determinar a diferença entre a concentração de cálcio/fósforo perdidos e o pH. A fim de avaliar a diferença da microdureza foi empregado o teste ANOVA, seguido do teste de Tukey. O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

4.5 – Resultados

4.5.1 – pH

As médias do pH inicial e final de cada grupo estão dispostos na tabela 1. Todas as bebidas alcoólicas testadas apresentaram um pH ácido, com exceção do pH0 do grupo da VC. O pH mais baixo registrado foi o da VC e o da CH após 12 h e 24 h de exposição ($\text{pH}=3.8$). O pH do grupo controle se manteve entre 7.2 e 7.9 durante todos os tempos avaliados, ou seja, levemente alcalino. Nas duas comparações, todos os grupos apresentaram diferença estatisticamente significativa de pH com exceção do grupo da cerveja quando foi comparado com pH1 e pH12. A tabela 2 expõe as médias dos 4 grupos de bebidas avaliadas que não tiveram contato com os espécimes dentários. O grupo controle se manteve levemente alcalino durante todos os tempos avaliados assim como o grupo da vodca. Entretanto, o grupo da cerveja e da cachaça apresentaram pH ácido durante todos os tempos.

4.5.2 – Microdureza

As médias da microdureza final do lado experimental após os três tempos de exposição estão na figura 1. A tabela 3 mostra as médias de microdureza no lado controle e no lado experimental antes e após os determinados tempos de exposição. O teste de Pearson demonstrou uma correlação negativa forte entre a microdureza dos três grupos experimentais e o tempo de exposição (r Cerveja = -0,95/ r Vodca = -0,85/ r Cachaça = -0,92), ou seja, quanto mais tempo as amostras ficaram expostas as bebidas, menor foi a microdureza. A figura 2 mostra os gráficos obtidos com o teste de correlação de Pearson dos três grupos experimentais. Ao utilizar o teste de Tukey para comparar a microdureza inicial do lado experimental com a final do lado experimental, os grupos que obtiveram diferença estatisticamente significativa foram: o grupo da cerveja e da cachaça em todos os tempos, o grupo da vodca nos tempos de 12h e 24h e o da água 1h e 12h. Ao utilizar o mesmo teste para comparar a microdureza final do lado controle com a final do lado experimental, os grupos que apresentaram diferença

estatística significativa foram: cerveja em todos os tempos, vodca e cachaça em 12h e 24h e água no grupo de 1 h.

4.5.3 – Morfologia do esmalte bovino

A figura 3 exibe o aspecto morfológico do esmalte bovino após 24 horas de exposição às diferentes bebidas avaliadas e seus respectivos controles (com aumento de 100.000 vezes). A microscopia eletrônica de varredura revelou que as amostras controle apresentaram uma superfície de esmalte mais lisa quando comparada aos demais grupos. O esmalte exposto às diferentes bebidas alcoólicas apresentou uma superfície mais irregular (muitas vezes em formato arredondado) quando comparado aos lados controles. Estas irregularidades provavelmente foram o resultado da dissolução do esmalte causada pelo contato com a bebida. Esse aspecto morfológico foi visualizado facilmente nos grupos da vodca e da cachaça.

4.5.4 – Topografia

As médias da altura da área selecionada (500 μm) das amostras de 24 horas, com aumento de 50.000 vezes são exibidos na tabela 4. A figura 4 ilustra a topografia em 3D de amostras do grupo da vodca, cerveja, cachaça e água respectivamente. Quanto maior o número desta altura, maior é a irregularidade superficial devido à diferença de altura entre picos e vales. Nas amostras de bebidas alcoólicas, quando comparado o valor do lado controle com o experimental houve aumento em todos os grupos, ou seja, o lado que teve contato com essas bebidas ficou com a topografia mais irregular. No grupo da cerveja houve um discreto aumento de quase 6% dessa altura no lado experimental comparado ao controle, no grupo da cachaça foi de 99,6% e no grupo da vodca de 399,5%. Entretanto, no grupo controle (H_2O) a média da altura no lado experimental foi menor do que no lado controle.

4.5.5 – Concentração de cálcio e fósforo

A tabela 5 exibe a quantificação de cálcio e a tabela 6 de fósforo das amostras nos diferentes tempos de exposição. Foi possível notar em todos os grupos experimentais que quanto maior era o tempo de exposição, maior era a

concentração de cálcio e fósforo nas amostras. Entretanto, o grupo controle apresentou um padrão diferente dos outros grupos, pois para os dois elementos analisados a concentração foi menor do grupo 24 horas do que no exposto 12 horas. Quando se comparou a concentração após 1 hora de exposição com os demais tempos intragrupo do cálcio, o teste T apontou uma diferença estatisticamente significativa para todos os grupos experimentais. Por outro lado, esses valores só foram significativos para o grupo da vodca e da cachaça para a concentração de fósforo.

4.6 – Discussão

O consumo de álcool tem sido associado ao desenvolvimento de várias alterações bucais, inclusive, às lesões erosivas [26,27,28,29,30]. O presente estudo investigou o impacto de três bebidas alcoólicas sobre o processo erosivo de dentes bovinos. Os resultados revelaram que o pH das bebidas alcoólicas eram ácidos, com exceção do pH inicial da vodca. Elas foram capazes de promover a liberação de cálcio e fósforo da superfície do esmalte, diminuíram a sua microdureza e resultaram em lesões erosivas em estágio inicial.

A capacidade erosiva das bebidas está associada ao seu pH [31]. Por isso, a sua mensuração é um dos parâmetros mais importantes para determinar este potencial [9]. Em concordância com estudos prévios [10,11,20], as bebidas alcoólicas avaliadas nesta pesquisa apresentaram um pH ácido. Os valores de pH mais baixos registrados foram 3,8 (no grupo da vodca e da cachaça) e 4,1 (no grupo da cerveja). O valor do pH das diferentes marcas de cerveja mensuradas no estudo de Zanatta *et al.* [11] variaram de 4,26 - 4,34 e no estudo de Seow *et al.* [20] de 3,8 a 3,9, sendo assim valores muito próximos aos encontrados neste estudo. No estudo de Lussi *et al.* [10], a vodca avaliada (Smirnoff ice) apresentou o pH igual a 3,07, levemente mais ácida do que a vodca deste estudo. No entanto, a presença de suco de limão na vodca avaliada por aquele autor pode ter contribuído para aumentar a sua acidez. O pH foi ácido no grupo da cerveja e da cachaça nas amostras de bebidas que não tiveram contato com os espécimes de esmalte em todos os tempos. Entretanto, o pH se manteve levemente alcalino no grupo da vodca sugerindo que, o declínio do pH na mensuração experimental desta bebida pode estar relacionado com o contato dos espécimes de esmalte. O

pH crítico para desmineralização do esmalte é de 5,5 e na presença do flúor 4,5 [20,32], ou seja, ao avaliarmos isoladamente o fator pH todas estas bebidas, com exceção da vodca, teriam potencial erosivo.

A erosão dentária ocorre como uma perda da estrutura dentária, onde os íons de hidrogênio do ácido em contato com a superfície do dente promovem a dissolução dos cristais de esmalte [15]. A reação da dissolução da hidroxiapatita tem como produto os íons de cálcio e fosfato [33].

Para mensurar esta perda dentária diversas técnicas estão disponíveis, tais como a microdureza, análises químicas, diferentes técnicas microscópicas [34]. A microdureza é utilizada para essas mensurações, pois o amolecimento da superfície do dente (manifestação inicial da erosão) pode ser quantificado por meio desta técnica [34]. Além disso, os valores da microdureza superficial já foram associados com o potencial erosivo de algumas bebidas [31]. No presente estudo, todas as bebidas alcoólicas testadas reduziram a microdureza após os três tempos de exposição. Diversos estudos têm mostrado que há uma diminuição da microdureza após o contato com diferentes bebidas ácidas [31,35,36,37]. Entretanto, o estudo de Zanatta *et al.* [11] revelou que apenas uma determinada marca comercial de cerveja foi capaz de reduzir a microdureza após 30 e 60 minutos de imersão. No estudo Lussi *et al.* [10], as duas marcas de vodca avaliadas e uma de cerveja foram capazes de reduzir significativamente a microdureza das amostras nos primeiros e segundo dois minutos de exposição e somente nos segundos dois minutos de exposição, respectivamente.

É importante ressaltar que diversos fatores estão envolvidos com o potencial erosivo das bebidas, como o tipo de ácido presente na bebida, a concentração deste ácido, a temperatura e a acidez titulável, por exemplo [17]. Além dos fatores citados, o tempo de exposição também influencia no potencial erosivo [38]. A literatura mostra que este tempo de contato com as bebidas é muito diversificado e varia de minutos a dias [35,36,37,39]. No presente estudo, a escolha dos três tempos de exposição se baseou na capacidade das bebidas de proporcionar uma perda de esmalte suficiente para ser mensurada. Apesar destes tempos não se reproduzirem fielmente *in vivo*, o tempo de imersão de uma hora foi amplamente utilizado em estudos prévios [9,17,35,40]. O tempo de 24 horas foi escolhido pensando em indivíduos que consomem frequentemente estas bebidas. Ele foi

baseado no cálculo de consumo diário de 25 vezes com tempo de permanência da bebida na boca de 20 segundos. Isto resultaria em uma exposição anual do esmalte de aproximadamente 90.000 segundos, ou seja, 25 horas anuais [39]. Os diferentes tempos de exposição presentes na literatura somado aos fatores previamente citados podem explicar os variados resultados encontrados na literatura com relação às bebidas alcoólicas e a microdureza.

A concentração de cálcio e fósforo das amostras foi mensurada para avaliar a perda do esmalte dentário durante os diferentes tempos de exposição. Estudos prévios investigaram o potencial erosivo de bebidas por meio da quantificação destes minerais [38,41]. A concentração destes elementos tende a aumentar durante o experimento devido à dissolução da hidroxiapatita [42]. No presente estudo, apesar da concentração destes dois minerais aumentarem nos grupos experimentais conforme o passar do tempo, eles só foram estatisticamente significativos nos grupos da vodca e da cachaça para os dois elementos e no grupo da cerveja para a concentração de cálcio. No estudo de Jager *et al.* [38], o padrão de perda de cálcio de duas marcas de vodca e uma de cerveja foi similar ao deste estudo, ou seja, aumentava conforme o passar do tempo.

A MEV é uma das técnicas mais comuns para a avaliação da mudança de morfologia de superfícies erodidas [43,44,45]. É possível encontrar na literatura trabalhos que demonstraram que algumas bebidas foram capazes de modificar a superfície de materiais dentários e do esmalte [39,46]. A MEV parece ser mais uma técnica de suporte nos estudos de erosão, como uma ferramenta de imagem [34]. Além das imagens da MEV, o presente estudo fez uma reconstrução em 3D da topografia de algumas amostras imersas em 24 horas por meio de um software específico. Estudos prévios mostraram que é possível notar modificações morfológicas na estrutura do esmalte erodido [47] e a avaliação em 3D superficial apontou visualmente uma superfície de esmalte mais áspera [48]. Apesar do pequeno número de amostras avaliadas foi possível notar uma irregularidade maior nos lados experimentais quando comparados com seus respectivos lados controles, com exceção do grupo da água. É importante lembrar que o lado controle foi coberto com fita adesiva e, mesmo após a lavagem com água destilada, alguns resquícios da cola puderam estar presentes. Além disto, essa análise foi realizada em grande aumento (50.000 x) e em amostras expostas a grandes períodos de

tempo, ou seja, não é possível afirmar que estes resultados se reproduzam clinicamente.

A terceira bebida alcoólica investigada neste estudo foi a cachaça. Ela é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, apresentando características sensoriais peculiares. A sua graduação alcoólica varia de 38% a 48% e é obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada até seis gramas de açúcar por litro [49]. É a segunda bebida alcoólica mais consumida pelos brasileiros, perdendo apenas para a cerveja e é a favorita entre as bebidas destiladas [21]. Os resultados deste grupo experimental não puderam ser comparados com bebidas do mesmo tipo, pois até o presente momento e nas bases de dados consultadas não foram encontrados estudos de erosão envolvendo esta bebida. Entretanto, em 2008, Jager *et al.* [50] observaram que dentes expostos ao rum podem sofrer uma perda significativa do esmalte dentário. Esta bebida alcoólica também é obtida a partir da cana-de-açúcar [49]. No presente estudo, o grupo da cachaça apresentou um baixo pH e foi capaz de reduzir significativamente a microdureza do esmalte em todos os tempos de exposição.

Os dentes bovinos e humanos apresentam diferenças estruturais que podem influenciar no processo erosivo [9]. Entretanto, a literatura tem mostrado que não há diferença significativa entre esses tipos de amostra na MEV [51] e com relação à microdureza [52]. Além disso, algumas características dos dentes humanos (como sua curvatura e uma pequena área superficial) muitas vezes resultam em um fator limitante para determinadas análises, como as que necessitam de espessuras uniformes [53]. A utilização de dentes bovinos em pesquisa é muito comum [9,11,37,38,54] e aceita pela literatura como substituto de dentes humanos [55], porém seus resultados devem ser interpretados cuidadosamente.

Outro fator limitante a ser considerado nesta pesquisa é que por ser um estudo *in vitro* não reproduz precisamente o que ocorreria *in vivo*, por isto os resultados obtidos podem ser superiores aos que ocorreriam clinicamente. Desta forma, do ponto de vista clínico, os indivíduos que consomem grandes quantidades e rotineiramente estes tipos de bebidas podem ter um maior risco a desenvolverem erosão e/ou outras lesões dentárias. Além disso, seria importante o desenvolvimento de novos estudos nesta área usando grupos controles com diferentes graduações alcoólicas e também grupos experimentais de bebidas

alcoólicas misturadas com sucos de frutas, energéticos e refrigerantes, pois usualmente a cachaça e a vodka não são consumidas puras.

4.7 – Conclusões

As bebidas alcoólicas avaliadas apresentaram baixo pH, foram capazes de promover a perda de cálcio e fósforo das amostras de esmalte, diminuir a microdureza superficial e apresentaram uma topografia mais irregular quando comparada ao lado controle. Isto nos sugere que estas bebidas aumentaram o risco à erosão dentária *in vitro*.

4.8 - Conflitos de interesses

Nenhum

4.9 – Agradecimentos

Ao Professor Giuliano Breda e toda a sua equipe, do curso de engenharia mecânica da Universidade Positivo, por permitir realizar as análises de microdureza. Agradeço também ao centro de microscopia da UFPR e ao técnico Deonir Agustini pela realização das imagens no MEV e pelas reconstruções em 3D das amostras. Ao Professor Sérgio Moura da UFRN, pela ajuda na interpretação das imagens do MEV.

4.10 – Referências

[1] World Health Organization. Global status report on alcohol and health. Printed in Luxembourg. 2014. Available from:

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112736/1/9789240692763_eng.pdf.

(Accessed 21.04.2017).

- [2] National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. 2015. Available from: <https://www.niaaa.nih.gov/alcohol-health/overview-alcohol-consumption/alcohol-facts-and-statistics>. (Accessed 21.04.2017).
- [3] R.H.S. Pedreira, L. Remencius, M.F.L. Navarro, Condições de saúde bucal de drogaditos em recuperação, *Rev Odontol Univ São Paulo*. 13 (1999) 395-399.
- [4] N. Enberg, J. Wolf, A. Ainamo, H. Alho, P. Heinala, M. Lumikari, Dental diseases and loss of teeth in a group of Finnish alcoholics: a radiological study, *Acta Odontol Scand*. 59 (2001) 341-347.
- [5] E. Hornecker, T. Muub, H. Ehrenreich, R.F. Mausberg, A pilot study on the oral conditions of severely alcohol addicted persons, *J Contemp Dent Pract*. 4 (2003) 1-7.
- [6] B. Hede, Determinants of oral health in a group of Danish alcoholics, *Eur J Oral Sci*. 104 (1996) 403-408.
- [7] U.M. Chikte, S. Naidoo, T.J. Kolze, S.R. Grobler, Patterns of tooth surface loss among winemakers, *SADJ*. 60 (2005) 370-374.
- [8] P. Manarte, M.C. Manso, D. Souza, J. Frias-bulhosa, S. Gago, Dental erosion in alcoholic patients under addiction rehabilitation therapy, *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 14 (2009) 377-384.
- [9] M.A. Ablal, J.S. Kaur, L. Cooper, F.D. Jarad, A. Milosevic, S.M. Higham, A.J. Preston. The erosive potential of some alcopops using bovine enamel: An in vitro study, *J Dent*. 37 (2009) 835-839.
- [10] A. Lussi, B. Megert, R.P. Shellis, X. Wang, Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications, *Br J Nutr*. 107 (2012) 252-262.
- [11] R.F. Zanatta, M.A.L.R. Esper, M.C. Valera, R.M. Melo, E. Bresciani, Harmful effect of beer on bovine enamel microhardness – in vitro study, *PLOS ONE*. 11 (2016) 1-7.
- [12] S. Kumar, J. Tadakamadla, H. Tibdewal, P. Duraiswamy, S. Kulkarni, A pilot study into the effect of whisky, wine and beer consumption on tooth surface dissolution, *OHDM*, 12 (2013) 151-154.

- [13] J. O. Grippo, M. Simring, S. Schreiner, Attrition, abrasion, corrosion and abfraction revisited. A new perspective on tooth surface lesions, JADA. 135 (2004) 1109-1118.
- [14] T. Imfeld, Dental Erosion: definition, classification and links, Eur J Oral Sci. 104 (1996) 151-155.
- [15] A. Lussi, T. Jaeggi, Erosion – diagnosis and risk factors, Clin Oral Invest. 12 (2008) 5-13.
- [16] A. Lussi, Dental erosion Clinical diagnosis and case history taking, Eur J Oral Sci. 104 (1996) 191-198.
- [17] P. Benjakul, C. Chuenarrom, Association of dental enamel loss with the pH and titratable acidity of beverages, J Dent Sci. 6 (2011) 129-133.
- [18] M.J. Larsen, B. Nyvad, Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate, Caries Res. 33 (1999) 81-87.
- [19] M.E. Barbour, R.P. Shellis, An investigation using atomic force microscopy nanoindentation of dental enamel demineralization as a function of undissociated acid concentration and differential buffer capacity, Phys Med Biol. 52 (2007) 899-910.
- [20] W.K. Seow, K.M. Thong, Erosive effects of common beverages on extracted premolar teeth, Aust Dent J. 50 (2005) 173-178.
- [21] W. O. Gomes. O perfil da cachaça. Biblioteca Digital do SEBRAE – BDS. 2004. Available from: <http://bis.sebrae.com.br/conteudoPublicacao.zhtml?id=117>. (Accessed 21.04.2017).
- [22] P. Wisniewska, M. Sliwinska, T. Dymerski, W. Wardencki, J. Namiesnik, Application of gas chromatography to analysis of spirit-based alcoholic beverages, Rev Anal Chem. 45 (2015) 201-225.
- [23] A. Aykut-Yetkiner, T. Attin, A. Wiegand, Prevention of dentine erosion by brushing with anti-erosive toothpastes, J Dent. 42 (2014) 856-861.

- [24] E.L.D. Barros, S.C.S. Pinto, A.H. Borges, M.R. Tonetto, R.P. Ellwood, I. Pretty, M.C. Bandéca, Toothpaste prevents debonded brackets on erosive enamel, *Scientific World Journal*. (2015) 1-6.
- [25] S. Ranjitkar, A. Turan, C. Mann, G.A. Gully, M. Marsman, S. Edwards, J.A. Kaidonis, C. Hall, D. Lekkas, P. Wetselaar, A.H. Brook, F. Lobbezoo, G.C. Townsend, Surface-sensitive microwear texture analysis of attrition and erosion, *J Dent Res*. 96 (2017) 300-307.
- [26] W.J. Blot, J.K. McLaughlin, D.M. Winn, D.F. Austin, R.S. Greenberg, S. Preston-martin, et al, Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer, *Cancer Res*. 48 (1988) 3282-328.
- [27] B. Hede, Determinants of oral health in a group of Danish alcoholics, *Eur J Oral Sci*. 104 (1996) 403-408.
- [28] N. Johnson, Tobacco use and oral cancer: a global perspective, *J Dent Educ*, 65 (2001) 328-339.
- [29] E. Hornecker, T. Muub, H. Ehrenreich, R.F. Mausberg, A pilot study on the oral conditions of severely alcohol addicted persons, *J Contemp Dent Pract*. 4 (2003) 1-7.
- [30] C. Canova, L. Richiardi, F. Merletti, M. Pentenero, C. Gervasio, G. Tanturri, P. Garzino-demo, G. Pecorari, R. Talamini, L. Barzan, et al., Alcohol, tobacco and genetic susceptibility in relation to cancers of the upper aerodigestive tract in northern Italy, *Tumori*. 96 (2010) 1-10.
- [31] A. Lussi, T. Jäggi, S. Schärer, The influence of different factors on in vitro enamel erosion, *Caries Res*. 27 (1993) 387-393.
- [32] G.J. Mount, Minimal intervention dentistry: rationale of cavity design, *Oper Dent*. 28 (2003) 92-99.
- [33] T. Stefański, P. Malara, A. Kloc-ptaszna, B. Janoszka, L. Postek-Stefańska, K. Tyrpień-Golder, L.A. Dobrzański, Erosive potential of calcium-supplemented citric

acid on bovine enamel, Archives of materials science and engineering. 64 (2013) 175-181.

[34] M.E. Barbour, J.S. Rees, The laboratory assessment of enamel erosion: a review, J Dent. 32 (2004) 591-602.

[35] U.M.E. Chikte, S.R. Grobler, T.J.V.W. Kotze, In vitro human dental enamel erosion by three different wine samples, SADJ. 58 (2003) 360-362.

[36] S. Wongkhantee, V. Patanapiradej, C. Maneenut, D. Tantbirojn, Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials, J Dent. 34(2006) 214-220.

[37] D. Tantbirojn, A. Huang, M.D. Ericson, S. Poolthong, Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a CPP-ACP paste, J Dent. 36 (2008) 74-79.

[38] D.H.J. Jager, A.M. Vieira, J.L. Ruben, M.C.D.N.J.M. Huysmans, Estimated erosive potential depends on exposure time, J Dent. 40(2012) 1103-1108.

[39] B. Karda, R. Jindal, S. Mahajan, S. Sandhu, S. Sharma, R. Kaur, To analyse the erosive potential of commercially available drinks on dental enamel and various tooth coloured restorative materials – an in vitro study, J Clin Diagn Res. 10 (2016) 117-121.

[40] J. Syed, R.G. Chadwick, Summary of: A laboratory investigation of consumer addition of UHT milk to lessen the erosive potential of fizzy drinks, Br Dent J. 206(2009).

[41] T.H. Grenby, M. Mistry, T. Desai, Potential dental effects of infants' fruit drinks studied in vitro, Br J Nutr. 64 (1990) 273-283.

[42] T. Jensdottir, A. Bardow, P. Holbrook, Properties and modification of soft drinks in relation to their erosive potential in vitro, J Dent. 33 (2005) 569-575.

[43] L.M. Silverston, C.A. Saxton, I.L. Dogon, O. Fejerskov, Variation in the pattern of acid etching of human dental enamel examined by scanning electron microscopy, Caries Res. 9(1975) 373-387.

- [44] C.R. Parkinson, A. Shahzad, G.D. Rees, Initial stages of enamel erosion: An in situ atomic force microscopy study, *J Struct Biol.* 171 (2010) 298-302.
- [45] J. Seong, A. Virani, C. Parkinson, N. Claydon, N. Hellin, R.G. Newcombe, N. West, Clinical enamel surface changes following an intra-oral acidic challenge, *J Dent.* 43(2015) 1013-1020.
- [46] R. Barac, J. Gasic, N. Trutic, S. Sunaric, J. Popovic, P. Djekic, G. Radenkovic, A. Mitic, A. Erosive effect of different soft drinks on enamel surface in vitro: application of stylus profilometry, *Med Princ Pract.* 24 (2015) 451-457.
- [47] S. Sauro, F. Mannocci, M. Piemontese, R. Mongiorgi, In situ enamel morphology evaluation after acidic soft drink consumption: protection factor of contemporary toothpaste, *Int J Dent Hygiene.* 6 (2008) 188-192.
- [48] Y. Ren, Q. Zhao, H. Malmstrom, V. Barnes, T. Xu, Assessing fluoride treatment and resistance of dental enamel to soft drink erosion in vitro: Applications of focus variation 3D scanning microscopy and stylus profilometry, *J Dent.* 37 (2009) 167-176.
- [49] BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Presidência da República, Casa Civil, Subchefia para Assuntos Jurídicos. Available from: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm. (Accessed 21.04.2017).
- [50] D.H.J. Jager, A.M. Vieira, J.L. Ruben, M.C.D.N.J.M. Huysmans, Influence of beverage composition on the results of erosive potential measurement by different measurement techniques, *Caries Res.* 42 (2008) 98-104.
- [51] D. Rios, H.M. Honório, A.C. Magalhães, S.M.B. Silva, A.C.B. Delbem, M.A.A.M. Machado, M.A.R. Buzalaf, Scanning electron microscopic study of the in situ effect of salivary stimulation on erosion and abrasion in human and bovine enamel, *Braz Oral Res.* 22 (2008) 132-138.

- [52] C.P. Turssi, D.F. Messias, S.M. Corona, M.C. Serra, Viability of using enamel and dentin from bovine origin as a substitute for human counterparts in an intraoral erosion model, *Braz Dent J.* 21 (2010) 332-336.
- [53] G.H. Yassen, J.A. Platt, A.T. Hara, Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature, *J Oral Sci.* 53 (2011) 273-282.
- [54] C. Hannig, A. Hamkens, K. Becker, R. Attin, T. Attin, Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro, *Arch Oral Biol.* 50 (2005) 541-552.
- [55] P. Laurance-Young, L. Bozec, L. Gracia, G. Rees, F. Lippert, R.J.M. Lynch, J.C. Knowles, A review of the structure of human and bovine dental hard tissues and their physicochemical behavior in relation to erosive challenge and remineralization, *J Dent.* 39 (2011) 266-272.

4.11 – Tabelas

4.11.1 – Tabela 1

Tabela 1 – Médias do pH (\pm Desvio Padrão) das diferentes bebidas testados.

Bebidas	pH0	pH1	Valor p (pH0-pH1)	pH12	Valor p (pH0-pH12)	pH24	Valor p (pH0-pH24)
H ₂ O	7,9 (0.29)	7,4 (0.25)	p<0.001*	7,2 (0.29)	p<0.001*	7,5 (0.28)	p<0.001*
CJ	4,1 (0.04)	4,2 (0.01)	p=0.287	4,2 (0.01)	p=0.143	4,3 (0.01)	p<0.001*
VC	7,6 (0.45)	4,6 (0.11)	p<0.001*	3,8 (0.10)	p<0.001*	3,8 (0.07)	p<0.001*
CH	4.8 (0.16)	4,4 (0.26)	p<0.001*	3,8 (0.12)	p<0.001*	3,8 (0.08)	p<0.001*

*Teste t: p<0.05.

pH0= pH inicial das bebidas;

pH1= pH após 1 hora de imersão.

pH12= pH após 12 horas de imersão;

pH24= pH após 24 horas de imersão.

4.11.2 – Tabela 2

Tabela 2 – Médias do pH (\pm Desvio Padrão) das diferentes bebidas testados sem contato com as amostras de esmalte.

Bebidas	pH0	pH1	pH12	pH24
H ₂ O	8.5 (0.10)	8.3 (0.19)	8.5 (0.12)	8.7 (0.10)
CJ	4.3 (0.05)	4.0 (0.05)	4.3 (0.10)	4.3 (0.09)
VC	7.7 (0.13)	7.3 (0.24)	7.4 (0.18)	7.7 (0.25)
CH	4.7(0.16)	4.5 (0.10)	4.4 (0.12)	4.6 (0.10)

pH0= pH inicial das bebidas;

pH1= pH após 1 hora.

pH12= pH após 12 horas.

pH24= pH após 24 horas.

4.11.3 – Tabela 3

Tabela 3 - Média da microdureza (\pm Desvio Padrão) em Vickers do lado controle (C) e experimental (E), antes (inicial) e após (final) os determinados tempos de exposição (1h, 12h e 24h).

Bebidas	Tempo de exposição	Inicial (C)	Final (C)	Inicial (E)	Final (E)	Valor p (Inicial E- Final E)	Valor p (Final C- Final E)
H ₂ O	1h	391.8 (36.6)	381.7 (25.7)	389.5 (49.1)	358.2 (43.3)	p= 0.001*	p=0.02*
	12h	388.9 (61.2)	373.9 (64.4)	378.3 (49.2)	371.7 (46.6)	p=0.01*	p=0.9
	24h	380.0 (31.7)	381.9 (26.9)	407.7 (31.4)	398.2 (21.9)	p=0.09	p=0.06
CJ	1h	409.4 (52.0)	396.8 (48.2)	396.5 (36.4)	334.7 (30.5)	p<0.001*	p<0.001*
	12h	385.6 (41.7)	390.5 (35.1)	398.3 (41.4)	159.2 (21.7)	p<0.001*	p<0.001*
	24h	361.3 (40.8)	352.5 (42.4)	361.9 (30.6)	86.7 (24.1)	p<0.001*	p<0.001*
VC	1h	385.9 (38.4)	385.4 (36.6)	399.2 (40.1)	379.5 (39.3)	p=0.05	p=0.5
	12h	387.4 (58.3)	390.4 (44.0)	380.0 (67.8)	186.8 (80.6)	p<0.001*	p<0.001*
	24h	393.6 (40.9)	386.4 (34.9)	404.9 (35.9)	155.8 (39.5)	p<0.001*	p<0.001*
CH	1h	376.7 (44.8)	373.6 (46.3)	396.3 (34.2)	357.0 (33.5)	p<0.001*	p=0.2
	12h	350.8 (50.1)	356.3 (50.8)	356.2 (65.5)	129.6 (19.7)	p<0.001*	p<0.001*
	24h	387.2 (20.1)	381.9 (19.5)	394.4 (35.5)	53.2 (26.4)	p<0.001*	p<0.001*

*Teste de Tukey: p<0.05.

4.11.3 – Tabela 4

Tabela 4 – Média da altura dos picos topográficos na área analisada(\pm Desvio Padrão) em μm no lado controle e no lado experimental das amostras expostas por 24 horas.

Bebidas	Lado controle	Lado experimental
H ₂ O (n=2)	30.8 (1.8)	19.6 (5.2)
Cerveja (n=2)	30.5 (1.1)	32.3 (14.2)
Vodca (n=2)	20.5 (10.7)	102.4 (13.1)
Cachaça (n=2)	25.3 (4.0)	50.5 (1.7)

4.11.5 – Tabela 5

Tabela 5 – Média da concentração de cálcio (\pm Desvio Padrão) presente nas bebidas nos diferentes tempos de exposição em mg/L.

Bebidas	Inicial	1h	12h	Valor p (1h-12h)	24h	Valor p (1h-24h)
H ₂ O	5.3 (0.40)	5.8 (0.51)	6.9 (0.24)	p<0.001*	6.4 (0.21)	p=0.001*
CJ	70.6 (1.53)	73.3 (9.61)	80.1 (2.87)	p=0.027*	82.2 (2.90)	p=0.005*
VC	0.1 (0.01)	0.5 (0.16)	1.8 (0.45)	p<0.001*	4.2 (0.92)	p<0.001*
CH	0.3 (0.01)	1.2 (0.21)	2.4 (0.26)	p<0.001*	4.0 (0.72)	p<0.001*

*Teste t: p<0.05. (1h vs 12h; 1h vs 24h)

Concentração de cálcio inicial, após 1 hora de exposição (1h), 12 horas (12h) e 24 horas (24h), nas diferentes bebidas avaliadas (H₂O= água destilada; CJ= cerveja; VC= vodca e CH= cachaça).

4.11.5 – Tabela 6

Tabela 6 – Média da concentração de fósforo (\pm Desvio Padrão) presente nas bebidas nos diferentes tempos de exposição em mg/L.

Bebidas	Inicial	1h	12h	Valor p (1h-12h)	24h	Valor p (1h-24h)
H ₂ O	0.1 (0.006)	0.1 (0.03)	0.2 (0.07)	p=0.16	0.1 (0.01)	p<0.001*
CJ	298 (2.64)	268.5 (5.80)	269.2 (7.41)	p=0.87	274.0 (7.63)	p=0.07
VC	p<0.001	0.1 (0.07)	0.9 (0.37)	p<0.001*	2.8 (0.63)	p<0.001*
CH	p<0.001	0.2 (0.21)	0.9 (0.19)	p<0.001*	2.6 (0.57)	p<0.001*

*Teste t: p<0.05. (1h vs 12h; 1h vs 24h)

Concentração de fósforo inicial, após 1 hora de exposição (1h), 12 horas (12h) e 24 horas (24h), nas diferentes bebidas avaliadas (H₂O= água destilada; CJ= cerveja; VC= vodca e CH= cachaça).

4.12– Figuras

4.12.1 – Figura 1

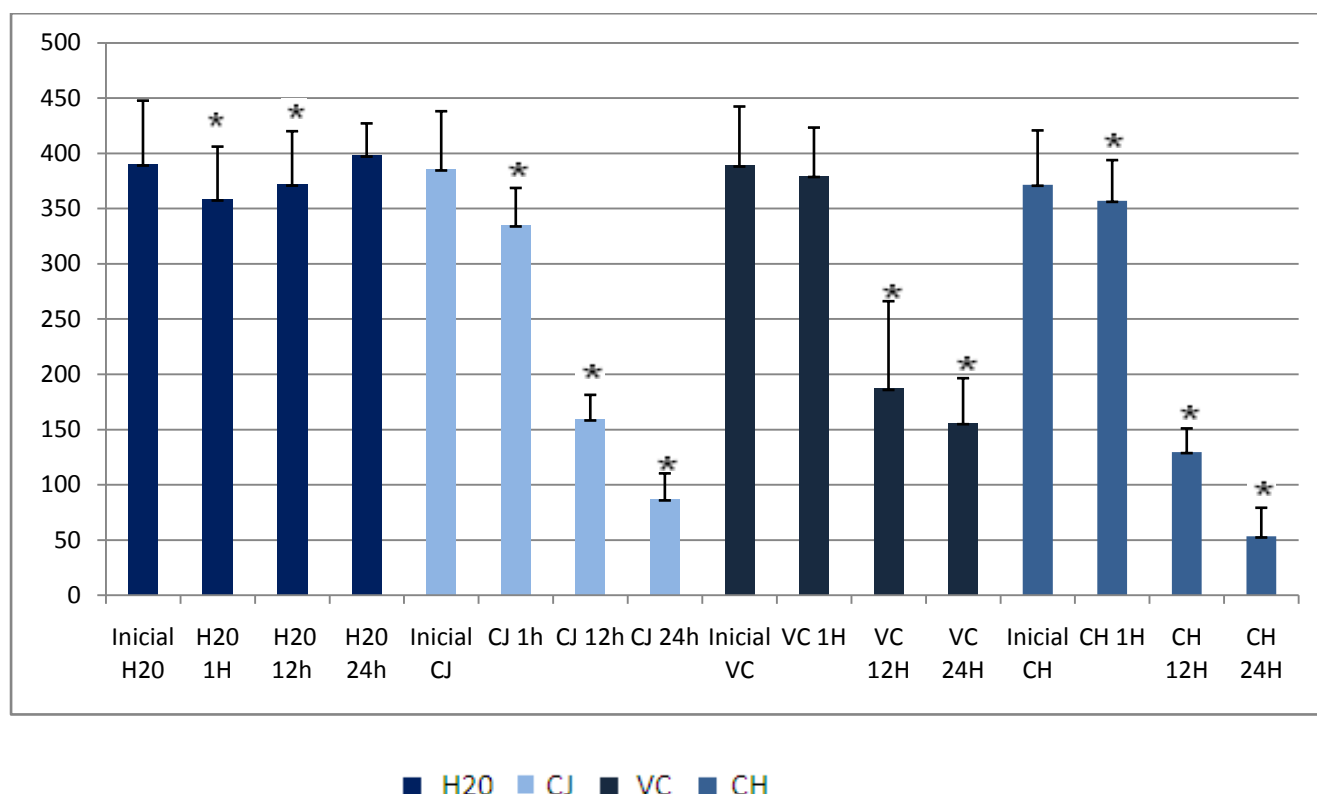


Figura 1 – Média da microdureza (\pm Desvio Padrão) inicial e final em Vickers no lado experimental no grupo da água destilada (H2O), cerveja (CJ), vodca (VC) e cachaça (CH), após 1 hora (1h), 12 horas (12h) e 24 horas (24h) de exposição. ANOVA/Tukey: $p < 0.05^*$ (inicial vs 1h; inicial vs 12h; inicial vs 24h).

4.12.2 - Figura 2

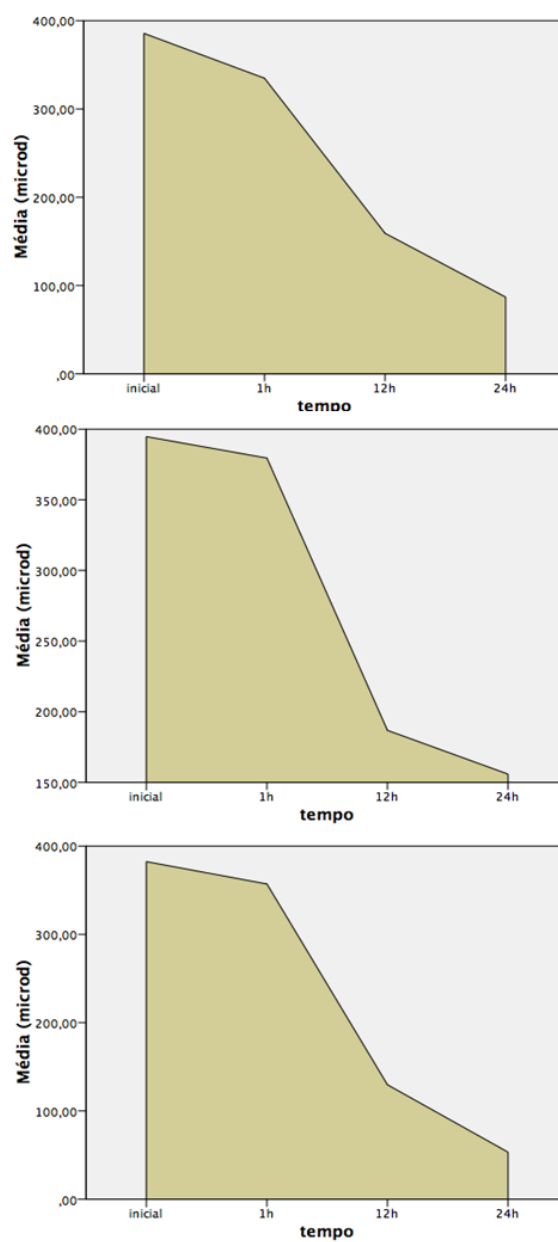


Figura 2 – Gráfico da correlação de Pearson da microdureza e do tempo de exposição, de cima para baixo, do grupo da Cerveja, da Vodca e da Cachaça.

4.12.3 - Figura 3 Lado controle Lado experimental

Água destilada

Cerveja

Cachaça

Vodca

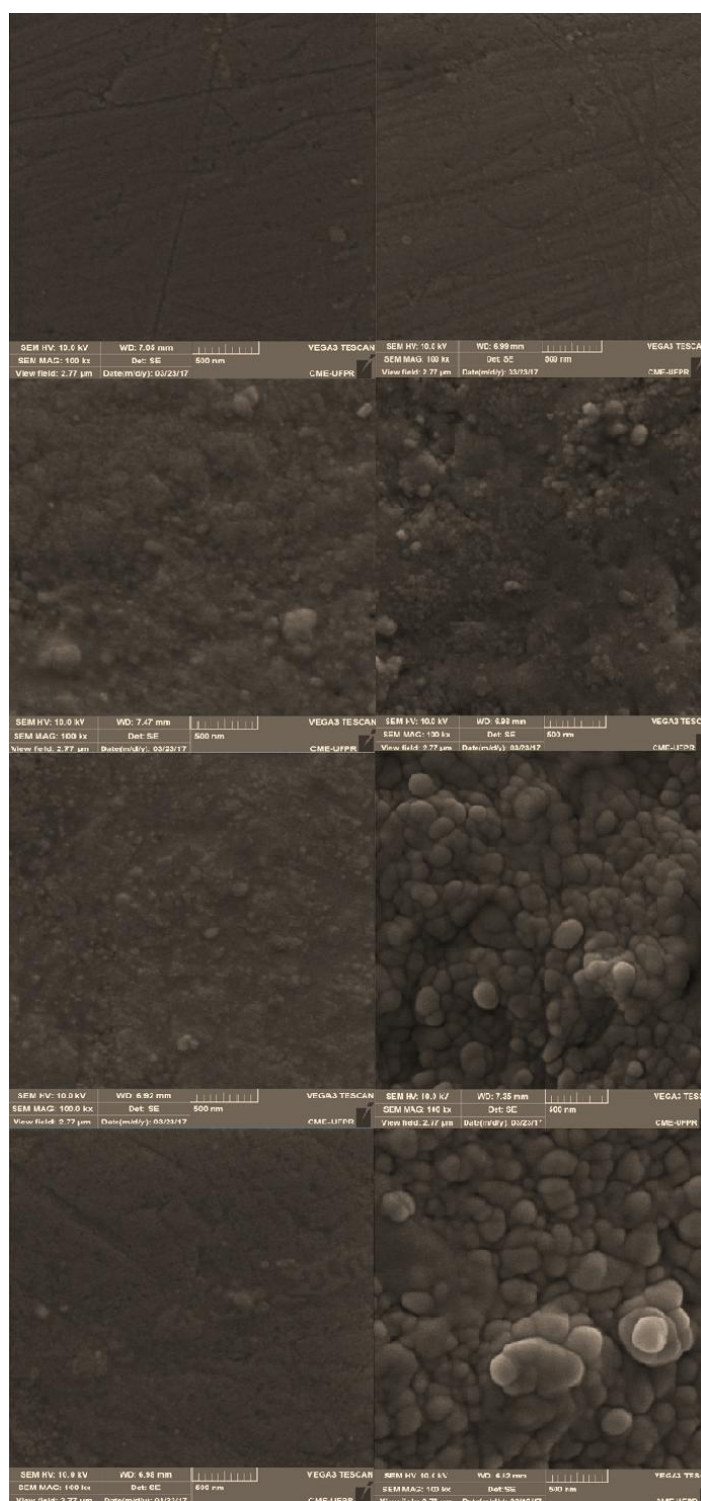


Figura 3 – Fotomicrografias do esmalte dentário bovino. Lado esquerdo corresponde ao controle e direito experimental. Ordem dos grupos, de cima para baixo: H₂O, CJ, CH e VC (Aumento de 100.000 vezes e área selecionada de 500µm).

4.12.4 – Figura 4

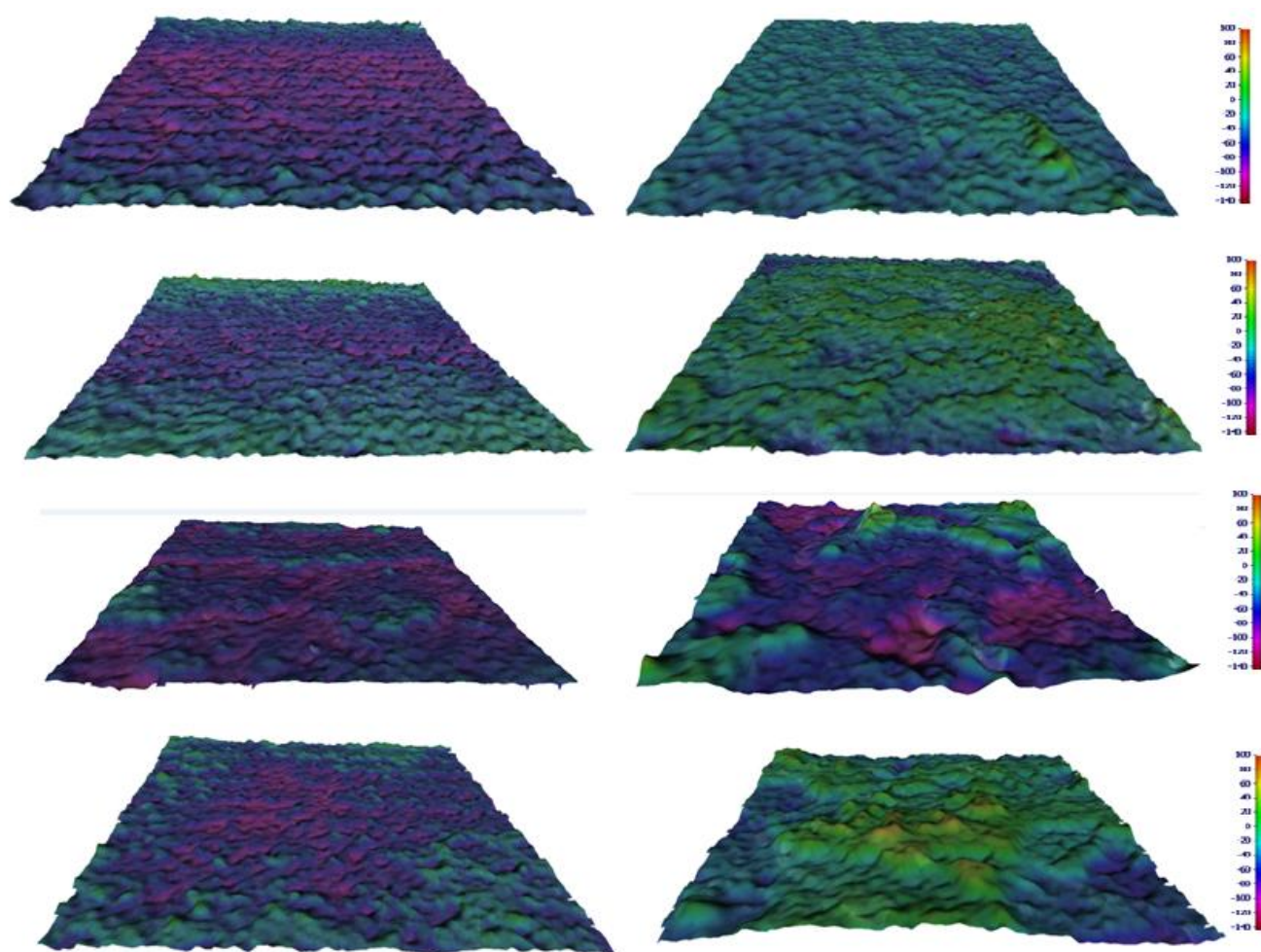
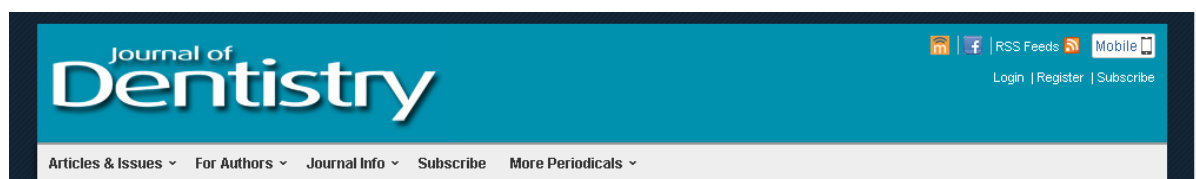


Figura 4 – Reconstrução em 3D da topografia das amostras expostas durante 24 horas. De cima para baixo: grupo da água, cerveja, vodca e cachaça respectivamente. Imagem do lado esquerdo corresponde ao lado controle e direito ao lado experimental. Aumento de 50.00 vezes.

5.1- ANEXO 1- AUTHOR GUIDELINES



DESCRIPTION.

The Journal of Dentistry is the leading international dental journal within the field of Restorative Dentistry. Placing an emphasis on publishing novel and high-quality research papers, the Journal aims to influence the practice of dentistry at clinician, research, industry and policy-maker level on an international basis. Topics covered include the management of dental disease, periodontology, endodontology, operative dentistry, fixed and removable prosthodontics, dental biomaterials science, longterm clinical trials including epidemiology and oral health, technology transfer of new scientific instrumentation or procedures, as well as clinically relevant oral biology and translational research. The Journal of Dentistry will publish original scientific research papers including short communications. It is also interested in publishing review articles and leaders in themed areas which will be linked to new scientific research. Conference proceedings are also welcome and expressions of interest should be communicated to the Editor.

TYPES OF PAPER

Contributions falling into the following categories will be considered for publication:

- Original Research Reports: maximum length 6 printed pages approximately 20 typescript pages, including illustrations and tables.
- Review articles: maximum length 10 printed pages, approximately 33 typescript pages, including illustrations and tables.
- Short communication for rapid publication: maximum length 2 printed pages, approximately 7 typescript pages, including illustrations.
- Letters providing informed comment and constructive criticism of material previously published in the Journal.

All typescripts must be accompanied by a Permission Note. This is a letter signed by each author (not just the corresponding author), affirming that the paper has been submitted solely to Journal of Dentistry and that it is not concurrently under consideration for publication in another journal. Prospective authors should confirm that the submitted work, including images, are original. Authors are reminded that if included images (e.g. Tables and Figures) have been previously published may require copyright permission. **AUTHOR INFORMATION PACK 28 Apr 2017** www.elsevier.com/locate/jdent 6 Please note the Journal of Dentistry does not accept Case Reports and these will be removed from the system if submitted.

AUTHORSHIP

Only those persons who have made a significant contribution to the manuscript submitted should be listed as authors. The Editor-in-Chief expects that a manuscript should normally have no more than 6 authors, unless a case is made by the corresponding author within the article cover letter to include other authors. All of the named authors should have been involved in the work leading to the publication of the paper and should have read the paper before it is submitted for publication.

SUBMISSION CHECKLIST

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details. Ensure that the following items are present: One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address All necessary files have been uploaded: Manuscript:
- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable) Supplemental files (where applicable) Further considerations
- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- Relevant declarations of interest have been made
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements For further information, visit our Support Center.

ESSENTIAL TITLE PAGE INFORMATION

- Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- Author names and affiliations. Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lowercase superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.
- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

The title page should contain the following information:

- Title of paper
- Short title
- Name(s), job titles and address(es) of author(s) (no academic degrees necessary)
- Name, address, telephone, fax and e-mail of the corresponding author
- Up to 6 keywords

Spelling: International English.

Authors are urged to write as concisely as possible. The house style of Journal of Dentistry requires that articles should be arranged in the following order: Title, Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, Tables, Figures.

A cover letter should accompany the new manuscript submission, within which the authors should indicate the significance of the work being submitted in a statement no more than 100 words. A signed permission note (details below) must also be included.

ABSTRACT:

Should not exceed 250 words and should be presented under the following subheadings: Objectives, Methods; Results; Conclusions (For Reviews: Objectives; Data; Sources; Study selection; Conclusions).

A 50 word 'Clinical Significance' statement should appear at the end of the abstract advising readers of the clinical importance and relevance of their work. These subheadings should appear in the text of the abstract. Please repeat the title of the article at the top of the abstract page.

INTRODUCTION:

Must be presented in a structured format, covering the following subjects, although not under subheadings: succinct statements of the issue in question, and the essence of existing knowledge and understanding pertinent to the issue. In keeping with the house style of Journal of Dentistry, the final paragraph of the introduction should clearly state the aims and/or objective of the work being reported. Prospective authors may find the following form of words to be helpful: "The aim of this paper is to ..." Where appropriate, a hypothesis (e.g. null or a priori) should then be stated.

KEYWORDS:

Up to 6 keywords should be supplied.

ABBREVIATIONS AND ACRONYMS:

Terms and names to be referred to in the form of abbreviations or acronyms must be given in full when first mentioned.

UNITS:

SI units should be used throughout. If non-SI units must be quoted, the SI equivalent must immediately follow in parentheses. The complete names of individual teeth must be given in the text. In tables and legends for illustrations individual teeth should be identified using the FDI two-digit system.

STATISTICS

Statistical methods should be described with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. When possible, findings should be quantified and appropriate measures of error or uncertainty (such as confidence intervals) given. Details about eligibility criteria for subjects, randomization and the number of observations should be included. The computer software and the statistical method(s) used should be specified with references to standard

works when possible (with pages specified). See http://www.icmje.org/manuscript_1prepare.html for more detailed guidelines.

ILLUSTRATIONS:

Should be submitted electronically using appropriate commercial software. Prospective authors should follow the relevant guidelines (available from: <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>). In addition, it is noted that while authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, journals published by Elsevier apply the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

ABSTRACT

The Abstract should not exceed 250 words and should be presented under the following subheadings: Objectives; Methods; Results; Conclusions. A 50 word 'Clinical Significance' statement should appear at the end of the abstract advising readers of the clinical importance and relevance of their work. These subheadings should appear in the text of the abstract. Please repeat the title of the article at the top of the abstract page. For Review Articles the abstract should be presented under the following subheadings: Objectives; Data; Sources; Study selection; Conclusions.

GRAPHICAL ABSTRACT

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements: Illustration Service.

KEYWORDS

Provide a maximum of 6 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

FORMATTING OF FUNDING SOURCES

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements: AUTHOR INFORMATION PACK 28 Apr 2017 www.elsevier.com/locate/jdent 12 Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa]. It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding. If no funding has been provided for the research, please include the following sentence: This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

ARTWORK

IMAGE MANIPULATION

Whilst it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature

within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

ELECTRONIC ARTWORK

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files. • Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file. A detailed guide on electronic artwork is available. You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

FORMATS

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format. Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts. TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

COLOR ARTWORK

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive AUTHOR INFORMATION PACK 28 Apr 2017 www.elsevier.com/locate/jdent 13 information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

ILLUSTRATION SERVICES

Elsevier's WebShop offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

FIGURE CAPTIONS

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

TABLES

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

REFERENCES

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

REFERENCE LINKS

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged. A DOI can be used to cite and link to electronic articles where an article is in press and full citation details are not yet known, but the article is available online. A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is:

VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>.

Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

WEB REFERENCES

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list. Data references This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List.

DATA REFERENCES

Should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article. AUTHOR INFORMATION PACK 28 Apr 2017 www.elsevier.com/locate/jdent 14

REFERENCES IN A SPECIAL ISSUE

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

REFERENCE MANAGEMENT SOFTWARE

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link: <http://open.mendeley.com/use-citation-style/journal-of-dentistry> When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

REFERENCE STYLE

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result' **List:** Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text. Examples:

Reference to a journal publication: [1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2010) 51–59.

Reference to a book:[2] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book: [3] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

Reference to a website: [4] Cancer Research UK, Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>, 2003 (accessed 13.03.03).

Reference to a dataset: [dataset] [5] M. Oguro, S. Imahiro, S. Saito, T. Nakashizuka, Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, *Mendeley Data*, v1, 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Journal abbreviations source Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

5.2 - ANEXO 2

DECLARAÇÃO DE DOAÇÃO DE DENTES BOVINOS

Identificação do doador:

Empresa: FRIGORÍFICO ARGUS LTDA

CNPJ nº: 81.304.552/0001-95

Endereço: BR 376 KM 621 – Miringuava

Cidade: São José dos Pinhais – UF: PR – CEP: 83.015-000

Declaro, para fins acadêmicos, que a empresa FRIGORÍFICO ARGUS LTDA doará 140 dentes bovinos para o projeto de pesquisa intitulado de “ **Avaliação *in vitro* do impacto de bebidas alcoólicas na superfície de dentes bovinos**” do curso de pós-graduação (Mestrado) em Odontologia da Universidade Federal do Paraná. Afirmando também que os dentes bovinos serão coletados após o abate dos animais, sendo este abate realizado dentro dos propósitos industriais do frigorífico e sem o fim específico de atender a demanda da pesquisa citada.

São José dos Pinhais, dia 11 de março de 2016.

Nome: Lilian Toffanetto

Função no Frigorífico Argus Ltda: Controle de Qualidade

Assinatura:  LILIAN TOFFANETTO
Médica Veterinária
Controle de Qualidade

5.3 - ANEXO 3 – DECLARAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (UFPR)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

DECLARAÇÃO

A Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA), do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná (UFPR), no uso de suas atribuições e em cumprimento a Lei nº 11.794, de 08 de Outubro de 2008, declara para os devidos fins que é permitido o uso de carcaças eticamente obtidas de animais domésticos (animais abatidos para fins zootécnicos, animais que morreram em hospitais veterinários ou que foram eutanasiados para cessar seu sofrimento em caso de doenças terminais) para fins didáticos e de pesquisa. Sendo assim, o professor Dr. Antonio Adilson Soares de Lima, do Departamento de Estomatologia da Universidade Federal do Paraná - UFPR, responsável pelo projeto Avaliação in vitro do impacto de bebidas alcoólicas na superfície do esmalte bovino, UFPR, não necessita de prévia aprovação da CEUA para o uso dos dentes de bovinos, retirados das carcaças obtidas após o abate do animal com finalidades não relacionadas a essa pesquisa (abate em frigorífico para consumo humano dos produtos).

Curitiba, 10 de fevereiro de 2016.

Simone Tostes de Oliveira Stedile
Coordenadora CEUA/SCA-UFPR

6. REFERÊNCIAS FINAIS

ABLAL, M. A.; KAUR, J. S.; COOPER, L.; JARAD, F. D.; MILOSEVIC, A.; HIGHAM, S. M.; PRESTON, A. J. The erosive potential of some alcopops using bovine enamel: An in vitro study. **J Dent**, England, v. 37, p. 835-839. 2009.

AMARAL, S. M.; ABAD, E. C.; MAIA, K. D.; WEYNE, S.; OLIVEIRA, M. P. R. P. B.; TUNÃS, I. T. C. Lesões não cariosas: o desafio do diagnóstico multidisciplinar. **Arq Int Otorrinolaringol**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 96-102. 2012.

BARAC, R.; GASIC, J.; TRUTIC, N.; SUNARIC, S.; POPOVIC, J.; DJEKIC, P.; RADENKOVIC, G.; MITIC, A. Erosive effect of different soft drinks on enamel surface in vitro: application of stylus profilometry. **Med Princ Pract**, Switzerland, v. 24, p. 451-457. 2015.

BARBOUR, M. E.; FINKE, M.; PARKER, D. M.; HUGHES, J. A.; ALLEN, G.C.; ADDY, M. The relationship between enamel softening and erosion caused by soft drinks at a range of temperatures. **J Dent**, England, v. 34, p. 207-213. 2006.

BARBOUR, M. E.; REES, J. S. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. **J Dent**, England, v. 32, p. 591-602. 2004.

BARBOUR, M. E.; SHELLIS, R. P. An investigation using atomic force microscopy nanoindentation of dental enamel demineralization as a function of undissociated acid concentration and differential buffer capacity. **Phys Med Biol**, England, v. 52, p. 899-910. 2007.

BASTOS, M. F.; GAAG, G. L. D.; ROMERO, J. R.; GABRILI, J. J. M.; MARQUES, M. R.; DUARTE, P. M. Effects of cachaça, a typical Brazilian alcoholic beverage, on alveolar bone loss and density: a study in peripubertal rats. **Arch Oral Biol**, England, v. 59, p. 82-91. 2014.

BENJAKUL, P.; CHUENARROM, C. Association of dental enamel loss with the pH and titratable acidity of beverages. **J Dent Sci**, Netherlands, v. 6, p. 129-133. 2011.

BLOT, W. J.; MCLAUGHLIN, J. K.; WINN, D. M.; AUSTIN, D. F.; GREENBERG, R. S.; PRESTON-MARTIN S.; et al. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. **Cancer Res**, United States, v. 48, p. 3282-3287, June. 1988.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Presidência da República, Casa Civil, Subchefia para Assuntos Jurídicos. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm> Acesso em: 21 de abril 2017.

CANOVA, C.; RICHIARDI, L.; MERLETTI, F.; PENTENERO, M.; GERVASIO, C.; TANTURRI, G.; GARZINO-DEMO, P.; PECORARI, G.; TALAMINI, R.; BARZAN, L.; *et al.* Alcohol, tobacco and genetic susceptibility in relation to cancers of the upper aerodigestive tract in northern Italy. **Tumori**, Italy, v. 96, p. 1-10, 2010.

CERVIERI JÚNIOR, O.; JÚNIOR, J. R. T.; GALINARI, R.; RAWET, E. L.; SILVEIRA, C. T. J. **O setor de bebidas no Brasil**. Rio de Janeiro: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social, 2014. Disponível em: <<https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/3462>>. Acesso em: 21 de abril 2017.

CHEN, F.; YAN, L.; LIN, L.; LIU, F.; QIU, Y.; WANG, J.; WU, J.; LIU, F.; HUANG, J.; CAI, L.; HE, B. Dietary score and the risk of oral cancer: a case-control study in southeast china. **Oncotarget**, March 29, 2017. Disponível em: <www.impactjournals.com/oncotarget>. Acesso em: 20 de abril 2017.

CHIKTE, U. M.; NAIDOO, S.; KOLZE, T.J.; GROBLER, S. R. Patterns of tooth surface loss among winemakers. **SADJ**, South Africa, v. 60, n. 9, p. 370-374, Oct. 2005.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura : aplicações e preparação de amostras : materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. Porto Alegre, EDIPUCRS, 2007. Disponível em: <<http://www.pucrs.br/edipucrs/online/microscopia.pdf>>. Acesso em: 21 de abril 2017. EISENBURGER, M.; HUGHES, J.; WEST, N. X.; JANDT, K. D.; ADDY, M. Ultrasonication as a method to study enamel demineralization during acid dissolution. **Caries Res**, Switzerland, v. 34, n. 4, p.289–294, jul./aug. 2000.

ENBERG, N.; WOLF, J.; AINAMO, A.; ALHO, H.; HEINALA, P.; LENANDER-LUMIKARI, M. Dental diseases and loss of teeth in a group of Finnish alcoholics: a 21 radiological study. **Acta Odontol Scand**, England, v. 59, n. 6, p. 341-347, Dec. 2001.

GLOBAL STATUS REPORT ON ALCOHOL AND HEALTH. **World Health Organization**, Printed in Luxembourg. 2014. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112736/1/9789240692763_eng.pdf>. Acesso em: 21 de abril 2017.

GOMES, W. O. O perfil da cachaça. Biblioteca Digital do SEBRAE – BDS, 2004. Disponível em: <<http://bis.sebrae.com.br/conteudoPublicacao.zhtml?id=117>>. Acesso em: 21 de abril 2017.

GRAY, A.; FERGUSON, M. M.; WALL, J. G. Wine tasting and dental erosion. Case report. **Aust Dent J**, Australia, v. 43, n.1, p.32-34, Feb. 1998.

HANNIG, C.; HAMKENS, A.; BECKER, K.; ATTIN, R.; ATTIN, T. Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro. **Arch Oral Biol**, England, v. 50, p. 541-552. 2005.

HARA, A. T.; ZERO, D. T. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. **Eur J Oral Sci**, England, v. 116, p. 60-65, Feb. 2008.

HEDE, B. Determinants of oral health in a group of Danish alcoholics. **Eur J Oral Sci**, England, v. 104, p. 403-408, 1996.

HORNECKER, E.; MUUB, T.; EHRENREICH, H.; MAUSBERG, R. F. A pilot study on the oral conditions of severely alcohol addicted persons. **J Contemp Dent Pract**, India, v. 4, n. 2, p. 1-7, May. 2003.

HOU, X.; JONES, B. T. **Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry**. Encyclopedia of Analytical Chemistry. Published Online: 13 Jun 2008. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470027318.a5110.pub2/abstract>>. Acesso em: 22 de abril de 2017.

IMFELD, T. Dental Erosion: definition, classification and links. **Eur J Oral Sci**, England, v. 104, n. 2, p. 151-155, Apr. 1996.

JAGER, D.H.J.; VIEIRA, A.M.; RUBEN, J.L.; HUYSMANS, M.C.D.N.J.M. Influence of beverage composition on the results of erosive potential measurement by different measurement techniques. **Caries Res**, Switzerland, v. 42, p. 98-104, 2008.

JARVINEN, V. K.; RYTOMAA, I.I.; HEINONEN, O.P. Risk factors in dental erosion. **J Dent Res**, United States, v. 70, n. 6, p. 942-947, June. 1991.
JOHNSON, N. Tobacco use and oral cancer: a global perspective. **J Dent Educ**, United States, v. 65, n. 4, p. 328-339, 2001.

KARDA, B.; JINDAL, R.; MAHAJAN, S.; SANDHU, S.; SHARMA, S.; KAUR, R. To analyse the erosive potential of commercially available drinks on dental enamel and various tooth coloured restorative materials – an in vitro study. **J Clin Diagn Res**, India, v. 10, n. 5, p. 117-121, May. 2016.

KIM, I.; SON, J. S.; MIN, B. K.; KIM, Y. K.; KIM, K.; KWON, T. A simple, sensitive and non-destructive technique for characterizing bovine dental enamel erosion: attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopy. **Int J Oral Sci**, India, v. 8, p. 54-60, 2016.

KUMAR, S.; TADAKAMADLA, J.; TIBDEWAL, H.; DURAISWAMY, P.; KULKARNI, S. A pilot study into the effect of whisky, wine and beer consumption on tooth surface dissolution. **OHDM**, United States, v. 12, n. 3, p. 151-154, Sept. 2013.

LARANJEIRA, R. *et al.* (Supervisão). II Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD) – 2012. São Paulo: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Políticas Públicas de Álcool e Outras Drogas (INPAD), UNIFESP. 2014. Disponível em: <http://inpad.org.br/wp-content/uploads/2014/03/Lenad-II-Relat%C3%B3rio.pdf>. Acesso em: 21 de abril 2017.

LARSEN, M. J.; NYVAD, B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. **Caries Res**, Switzerland, v. 33, p. 81-87, 1999.

LAURANCE-YOUNG, P.; BOZEC, L.; GRACIA, L.; REES, G.; LIPPERT, F.; LYNCH, R. J. M.; KNOWLES, J. C. A review of the structure of human and bovine dental hard tissues and their physicochemical behavior in relation to erosive challenge and remineralization. **J Dent**, England, v. 39, p. 266-272, 2011.

LUSSI, A.; JAEGGI, T. Erosion – diagnosis and risk factors. **Clin Oral Invest**, Germany, v. 12, p. 5-13, Mar. 2008.

LUSSI, A.; JAEGGI, T.; ZERO, D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. **Caries Res**, Switzerland, v. 38, p. 34-44, 2004.

LUSSI, A.; MEGERT, B.; SHELLIS, R. P.; WANG, X. Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. **Br J Nutr**, England, v. 107, p. 252-262, 2012.

LUSSI, A.; SCHLUETER, N.; RAKHMATULLINA, E.; GANSS, G. Dental erosion – An overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. **Caries Res**, Switzerland, v. 45, p. 2-12, 2011.

MANARTE, P.; MANSO, M. C.; SOUZA, D.; FRIAS-BULHOSA, J.; GAGO, S. Dental erosion in alcoholic patients under addiction rehabilitation therapy. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, Spain, v. 14, n. 8, p. 377-384, Aug. 2009.

MARDEGAN, S. F.; ANDRADE, T. M. B.; NETO, E. R. S.; VASCONCELLOS, E. B. C.; MARTINS, L. F. B.; MENDONCA, T. G.; MARTINELLI, L. A. Stable carbon isotopic composition of Brazilian beers — A comparison between large and small scale breweries. **J Food Compos Anal**, United States, v. 29, p. 52-57, 2013.

METZNER, C.; KRAUS, L. The impact of alcopops on adolescent drinking: a literature review. **Alcohol Alcohol Suppl**, England, v. 43, n. 2, p. 230-239, Oct. 2008.

MEURMAN, J. H.; TEN CATE, J. M. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. **Eur J Oral Sci**, England, v. 104, p. 199-206, 1996.

MOHAMMED, N. R.; MNEIMNE, M.; HILL, R. G.; AL-JAWAD, M.; LYNCH, R. J.; ANDERSON, P. Physical chemical effects of zinc on in vitro enamel demineralization. **J Dent**, England, v. 42, p. 1096-1104, 2014.

MOUNT, G. J. Minimal intervention dentistry: rationale of cavity design. **Oper Dent**, United States, v. 28, p. 92-99, 2003.

O'SULLIVAN, E. A.; CURZON, M. E. Dental erosion associated with the use of alcopop'--a case report. **Br Dent J**, England, v.184, p. 594-596, jun. 1998.

PEDREIRA, R. H. S.; REMENCIUS, L.; NAVARRO, M. F. L.; TOMITA, N. E. Condições de saúde bucal de drogaditos em recuperação. **Rev Odontol Univ São Paulo**, Brasil, v.13, n. 4, p.395-399, out./dez. 1999.

SANKARANARAYANAN, R.; RAMADAS, K.; AMARASINGHE H.; SUBRAMANIAN, S.; JOHNSON, N. Oral Cancer: Prevention, Early Detection, and Treatment. In: GELBAND, H.; JHA, P.; SANKARANARAYANAN, R.; et al., editors. **Cancer: Disease Control Priorities**. 3 ed. Washington (DC): The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank, 2015. Capítulo 5. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343649/doi:10.1596/978-1-4648-0349-9_ch5>. Acesso em: 21 de abril 2017.

SEOW, W. K.; THONG, K. M. Erosive effects of common beverages on extracted premolar teeth. **Aust Dent J**, Australia, v. 50, n. 3, p. 173-178, Sept. 2005.

SMITH, B. G. N.; ROBB, N. D. Dental erosion in patients with chronic alcoholism. **J Dent**, England, v. 17, p. 219-221, 1989.

SOBRAL, M. A. P.; LUZ, M. A. A. C.; GAMA-TEIXEIRA, A.; GARONE NETTO, N. Influência da dieta líquida ácida no desenvolvimento de erosão dental. **Pesq Odontol Bras**, Brasil, v. 14, n. 4, p. 406-410, out./dez. 2000.

STEFAŃSKI, T.; MALARA, P.; KLOC-PTASZNA, A.; JANOSZKA, B.; POSTEK-STEFAŃSKA, L.; TYRPIEŃ-GOLDER, K.; DOBRZAŃSKI, L. A. Erosive potential of calcium-supplemented citric acid on bovine enamel. **AMSE Review**, France, v. 64, n. 2, p. 175-181, Dec. 2013.

TEN CATE, J. M.; LARSEN, M. J.; PEARCE, E. I.; FEJERSKOV, O. **Chemical interactions between the tooth and oral fluids**. Copenhagen: Blackwell Munksgaard, 2003.

WAGNER, M. C.; ROCHA, J. M.; GAIO, E. J.; CAVAGNI, J.; CARRARD, V. C.; RÖSING, C. K. Effect of 15% alcohol dependence on alveolar bone loss and TNF- α secretion in Wistar rats. **Braz Dent J**, Brasil, v. 27, n. 2, p. 135-140, 2016.

WISNIEWSKA, P.; SLIWINSKA, M.; DYMERSKI, T.; WARDENCKI, W.; NAMIESNIK, J. Application of gas chromatography to analysis of spirit-based alcoholic beverages. **Crit Rev Anal Chem**, United States, v. 45, p. 201-225, 2015.

ZANATTA, R. F.; ESPER, M. A. L. R.; VALERA, M. C.; MELO, R. M.; BRESCIANI, E. Harmful effect of beer on bovine enamel microhardness – in vitro study. **PLOS ONE**, United States, v. 11, n. 10, p. 1-7, October 19, 2016. Disponível em:

<<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0163440>>.
Acesso em: 21 de abril 2017.